

FRANCISCO DIOGO CARVALHO GUERRA LIBERAL

**AVALIAÇÃO E CARATERIZAÇÃO POR
MÉTODOS COMPUTACIONAIS DE
DIFERENTES RADIOISÓTOPOS NO
CONTEXTO DA TERAPIA PALIATIVA DE
METÁSTASES ÓSSEAS**



Universidade do Porto

Faculdade de Engenharia

FEUP

Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Julho 2014

AVALIAÇÃO E CARATERIZAÇÃO POR MÉTODOS COMPUTACIONAIS DE DIFERENTES RADIOISÓTOPOS NO CONTEXTO DA TERAPIA PALIATIVA DE METÁSTASES

Dissertação submetida à Faculdade de Engenharia da Universidade do
Porto para satisfação parcial dos requisitos do:
MESTRADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

Por:

Francisco Diogo Carvalho Guerra Liberal

Licenciado em Engenharia Biomédica pela Universidade de Trás-os-
Montes e Alto Douro (2012)

Orientador:

João Manuel R. S. Tavares

Professor Associado do Departamento de Engenharia Mecânica da
Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Coorientador:

Adriana Alexandre S. Tavares

Consultora da Molecular NeuroImaging (MNI), LLC New Haven,
Connecticut, USA

Agradecimentos

Nunca seria capaz de realizar esta dissertação sem a preciosa orientação da Dr^a. Adriana Tavares e do Professor João Tavares, ajuda dos meus amigos e apoio da minha família.

Gostava de expressar a minha gratidão ao meu orientador, Professor João Tavares, pela excelente orientação, paciência. Gostava também de agradecer a Dr^a. Adriana Tavares, que pacientemente corrigiu a minha escrita, pensamentos e suportou a minha pesquisa. Não podia deixar de agradecer ao Dr. Robert Stewart (School of Health Sciences – Purdue University, USA) pelo fornecimento do pacote de simuladores utilizados.

Por último, gostaria de agradecer à minha família e amigos, que estiveram sempre ao meu lado para me apoiar e encorajar com os seus desejos e amizade.

Sumário

As metástases ósseas podem ocorrer em 30 a 70% dos doentes portadores de neoplasias. Os tumores malignos que mais frequentemente metastizam para o tecido ósseo incluem o carcinoma da mama, próstata e pulmões, e cerca de 65-75% dos doentes com cancro na próstata desenvolve metástases ósseas. A radioterapia externa ou interna, bem como o uso de analgésicos, podem ser utilizados como métodos de tratamento paliativo das metástases ósseas, cuja finalidade é o alívio dos sintomas, promovendo a melhoria da qualidade de vida do doente.

A radioterapia interna dirigida com utilização de radioisótopos é uma abordagem particularmente interessante para terapia paliativa de metástases ósseas quando os doentes apresentam múltiplos focos de metástases dispersos pelo esqueleto. Atualmente, diversos radioisótopos encontram-se em utilização na prática clínica, bem como sob investigação para este fim. Exemplos incluem o Fósforo-32 (^{32}P), Estrôncio-89 (^{89}Sr), Ítrio-90 (^{90}Y), Estanho-117m ($^{117\text{m}}\text{Sn}$), Samário-153 (^{153}Sm), Hólmio-166 (^{166}Ho), Túlio-170 (^{170}Tm), Lutécio-177 (^{177}Lu), Rénio-186 (^{186}Re), Rénio-188 (^{188}Re) e Rádio-223 (^{223}Ra).

Com recurso a simuladores computacionais desenvolvidos com base no algoritmo Monte Carlo é possível modelar de uma forma simples e eficaz diferentes cenários de irradiação, o que possibilita o estudo de diferentes propriedades radiobiológicas dos radioisótopos acima enumerados num período de tempo reduzido, quando comparado com estudos em culturas celulares. Assim, este trabalho tem por objetivo avaliar os efeitos radiobiológicos de onze radioisótopos utilizados na radioterapia paliativa de metástases ósseas, bem como inferir sobre a sua potencial eficiência terapêutica, através do recurso a métodos computacionais.

Os resultados obtidos nesta Dissertação permitem concluir que as partículas α do ^{223}Ra , bem como as partículas β^- emitidas pelos radioisótopos ^{177}Lu e ^{170}Tm , apresentam a maior capacidade de indução de morte celular de entre todos os radioisótopos investigados. Por outro lado a fração de sobrevivência celular é maior após irradiação com ^{89}Sr e ^{153}Sm , os dois radioisótopos frequentemente utilizados na

prática clínica do tratamento paliativo de metástases ósseas, do que com as partículas β^- do ^{177}Lu , ^{170}Tm e as partículas α do ^{223}Ra .

A avaliação dos resultados obtidos pelos simuladores e dos dados da pesquisa bibliográfica permite concluir que o ^{223}Ra e ^{177}Lu possuem o maior potencial para o tratamento paliativo de metástases ósseas. Em particular, o ^{223}Ra (o único emissor α estudado) demonstrou superioridade em relação aos restantes radioisótopos estudados em todos os testes realizados, sendo o dicloreto de rádio-223 o único radiofármaco com capacidade de aumentar a esperança média de vida dos doentes com metástases ósseas. Os dados apresentados nesta Dissertação incentivam a realização de estudos futuros *in vitro* e *in vivo* para comparação dos diferentes radioisótopos para o tratamento paliativo das metástases ósseas. Para além disso, os dados recolhidos nesta Dissertação sugerem a necessidade de reavaliar o uso clínico sistemático do ^{89}Sr e ^{153}Sm , em particular agora que o uso de outros radioisótopos, tais como o ^{223}Ra e o ^{177}Lu , é promovido com base em dados clínicos e estudos *in silico* e *in vitro*.

Abstract

Bone metastases occur in 30-70% of patients with cancer. Malignant tumors often metastasize to bone include breast, prostate and lung, and about 65-75% of prostate cancer patients develop bone metastases. Radiation therapy and analgesics, can be used as methods of palliative treatment of bone metastases, whose purpose is the relief of symptoms, further improving the quality.

The localized radiation therapy with radioisotopes is a particularly interesting approach to palliative therapy of bone metastases when patients have multiple foci of metastases scattered throughout the skeleton. Currently, several radioisotopes are in use in clinical practice as well as under investigation for this purpose. Examples include Phosphorus-32 (^{32}P), Strontium-89 (^{89}Sr), Yttrium-90 (^{90}Y), Tin-117m ($^{117\text{m}}\text{Sn}$), Samarium-153 (^{153}Sm), Holmium-166 (^{166}Ho), Thulium-170 (^{170}Tm), Lutetium-177 (^{177}Lu), Rhenium-186 (^{186}Re), Rhenium-188 (^{188}Re) and Radium-223 (^{223}Ra).

Using computational simulation developed based on Monte Carlo algorithm is possible to model a simple and effective manner different irradiation scenarios, which enables the study of different radiobiological properties of radioisotopes listed above in a short period of time, when compared with studies in cell cultures. This study aims to evaluate the radiobiological effects of eleven radioisotopes used in palliative radiotherapy for bone metastases as well as inferences about its potential therapeutic efficiency, through the use of computational methods. Therefore possible to estimate the percentage of lesions in deoxyribonucleic acid (DNA) using the Monte Carlo Damage Simulator (MCDS), the probability of a correct DNA repair with the Monte Carlo Excision Repair (MCER) and the effects of radiation on cell kinetics through the Virtual Cell Radiobiology algorithm (VC) after irradiation with the above particles.

The results obtained in this dissertation conclusion that the α particles of ^{223}Ra , as well as the β -particles emitted by radioisotopes ^{177}Lu and ^{170}Tm , have the highest ability to induce cell death from all radioisotopes investigated. On the other hand the fraction of cell survival after irradiation is greater with ^{89}Sr and ^{153}Sm , the

two radioisotopes commonly used in clinical practice palliative treatment of bone metastases than with β -particles of ^{177}Lu e ^{170}Tm and ^{223}Ra α particles.

The evaluation of the results obtained by simulation and data from literature shows that the ^{223}Ra and ^{177}Lu have the greatest potential for the palliative treatment of bone metastases. In particular, the ^{223}Ra (the only α emitter studied) demonstrated superiority over other radioisotopes studied in all tests, with the $^{223}\text{RaCl}_2$ the only radiopharmaceutical capable of increasing the average life expectancy of patients with bone metastases. The data presented in this Dissertation encourage future studies in vitro and in vivo to compare the different radioisotopes for palliation of bone metastases. Furthermore, the data collected in this Dissertation suggest the need to reevaluate the systematic clinical use of ^{89}Sr and ^{153}Sm , in particular now that use of other radioisotopes such as ^{223}Ra and ^{177}Lu is promoted based on clinical studies and in silico and in vitro.

Índice

Capítulo 1 Introdução e Estrutura da Dissertação	1
1.1 INTRODUÇÃO.....	3
1.2 OBJECTIVOS	4
1.3 ESTRUTURA	5
1.4 CONTRIBUIÇÕES PRINCIPAIS	7
Capítulo 2 Ciclo Celular, Carcinogénese e Radiobiologia Celular.....	1
2.1 INTRODUÇÃO.....	11
2.2 PRINCÍPIOS DO CICLO CELULAR.....	11
2.3 CARCINOGENÉSE	16
2.4 MORTE CELULAR PROGRAMADA	19
2.5 RADIOBIOLOGIA CELULAR	22
2.5.1 RADIOSENSIBILIDADE CELULAR	25
2.5.2 EFEITOS DA RADIAÇÃO	26
2.5.3 TIPOS DE DANOS CELULARES RADIOINDUZIDOS	29
2.5.4 MECANISMOS DE REPARAÇÃO CELULAR.....	31
2.5.5 CURVAS DE SOBREVIVÊNCIA E MODELOS DE RADIOBIOLOGIA CELULAR	33
2.6 IRRADIAÇÃO CELULAR E APOPTOSE	37
2.7 SUMÁRIO	38
Capítulo 3 Metástases Ósseas	2
3.1 INTRODUÇÃO.....	43
3.2 PROCESSO METÁSTICO	43
3.3 PROCESSO METÁSTICO NO CONTEXTO DO CANCRO DA PRÓSTATA	46
3.4 DETECÇÃO E TRATAMENTO DE METÁSTASES ÓSSEAS.....	47
3.4.1 SINAIS E SINTOMAS.....	48
3.4.2 MÉTODOS DE DETECÇÃO	49
3.4.3 MÉTODOS DE TRATAMENTO	51
3.5 CARACTERÍSTICAS DAS CÉLULAS ÓSSEAS NORMAIS E METASTÁTICAS	55
3.5.1 CÉLULAS ÓSSEAS NORMAIS.....	55
3.5.2 CÉLULAS ÓSSEAS METASTÁTICAS	56
3.6 CARACTERÍSTICAS DE CÉLULAS NORMAIS, NEOPLÁSICAS E METASTÁTICAS DA PROSTATA	59
3.7 SUMÁRIO	61

Capítulo 4 Radiofármacos Para Terapia Paliativa das Metástases Ósseas	2
4.1 INTRODUÇÃO.....	65
4.2 RADIOFÁRMACOS PARA TERAPIA PALIATIVA DAS METASTASES ÓSSEAS	65
4.2.1 CARACTERÍSTICAS DE UM RADIOFÁRMACO IDEAL PARA TERAPIA	66
4.2.2 CONSIDERAÇÕES NA ESCOLHA DOS RADIOFARMACOS PARA TERAPIA PALIATIVA DAS METASTATES ÓSSEAS.....	67
4.2.3 MECANISMOS DE CAPTAÇÃO ÓSSEA DO RADIOFÁRMACO	69
4.3 RADIOISÓTOPOS ATUALMENTE EM USO CLÍNICO OU EM INVESTIGAÇÃO PARA TERAPIA PALIATIVA DAS METÁSTASES ÓSSEAS.....	70
4.3.1 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM FÓSFORO-32 (^{32}P)	72
4.3.2 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM ESTRÔNCIO-89 (^{89}Sr).....	73
4.3.3 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM ÍTRIO-90 (^{90}Y)	75
4.3.4 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM ESTANHO-117m ($^{117\text{m}}\text{Sn}$)	77
4.3.5 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM SAMÁRIO-153 (^{153}Sm)	78
4.3.6 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM HÓLMIO-166 (^{166}Ho)	80
4.3.7 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM TÚLIO-170 (^{170}Tm).....	82
4.3.8 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM LÚTECIO-177 (^{177}Lu).....	83
4.3.9 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM RÉNIO-186 (^{186}Re).....	85
4.3.10 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM RÉNIO-188 (^{188}Re).....	87
4.3.11 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM RÁDIO-223 (^{223}Ra).....	88
4.4 PRINCIPAIS EVIDÊNCIAS CLÍNICAS DO USO DE RADIOFÁRMACOS PARA TERAPIA PALIATIVA DAS METASTASES ÓSSEAS.....	90
4.5 SUMÁRIO	94
Capítulo 5 Simuladores em Radiobiologia.....	95
5.1 INTRODUÇÃO.....	97
5.2 SIMULADORES.....	97
5.3 VANTAGENS E DESVANTAGENS DO USO DE SIMULADORES	98
5.4 PRINCÍPIOS DO MCDS	99
5.4.1 INFORMAÇÃO DE ENTRADA E SAÍDA.....	104
5.5 PRINCÍPIOS DO MCER.....	106
5.5.1 INFORMAÇÃO DE ENTRADA E SAÍDA.....	110
5.6 PRINCÍPIOS DO VC	111
5.6.1 INFORMAÇÃO DE ENTRADA E SAÍDA.....	112
5.7 SUMÁRIO	116
Capítulo 6 Simulações, Resultados e Análise	119

6.1	INTRODUÇÃO.....	121
6.2	PARÂMETROS EXPERIMENTAIS TESTADOS.....	121
6.3	RESULTADOS DO MCDS.....	123
6.4	RESULTADOS DO MCER.....	128
6.5	RESULTADOS DO VC.....	130
6.6	ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	143
6.7	SUMÁRIO	147
Capítulo 7 Conclusões Finais e Perspetivas Futuras		149
7.1	CONCLUSÕES.....	151
7.2	PERSPETIVAS FUTURAS	153
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		155
A.1:	Resultados MCDS.....	169
A.2:	Resultados MCER.....	170
A.3:	Número de Mutações Letais por Célula.....	171
A.4:	Probabilidade de Transformação neoplásica nas células irradiadas	172
A.5:	Probabilidade de Transformação neoplásica nas células sobreviventes..	173
A.6:	Número de células normais sobreviventes numa população quiescente ($G_0=0$)	174
A.7:	Número de células normais sobreviventes numa população heterogénea ($G_0=0.5$)	176
A.8:	Número de células normais sobreviventes numa população em divisão ($G_0=1$)	178
A.9:	Número de células neoplásicas sobreviventes numa população quiescente ($G_0=0$)	180
A.10:	Número de células neoplásicas sobreviventes numa população heterogénea ($G_0=0.5$)	182
A.11:	Número de células neoplásicas sobreviventes numa população em divisão ($G_0=1$)	184
A.12:	Número de células metastáticas sobreviventes numa população quiescente ($G_0=0$)	186
A.13:	Número de células metastáticas sobreviventes numa população heterogénea ($G_0=0.5$)	188
A.14:	Número de células metastáticas sobreviventes numa população em divisão ($G_0=1$)	190

Índice de Figuras

FIGURA 1: ESQUEMA DAS DIFERENTES FASES DO CICLO CELULAR E PRINCIPAIS PROCESSOS DE REGULAÇÃO E PROGRESSÃO DO MESMO POR VIA DE DIVERSOS COMPLEXOS DE CDK E CDKI.	15
FIGURA 2: DIFERENTES CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DAS CÉLULAS EM APOPTOSE E NECROSE.	22
FIGURA 3: RELAÇÃO ENTRE A RADIOSENSIBILIDADE DAS CÉLULAS E AS SUAS CARACTERÍSTICAS DE DIVISÃO E DIFERENCIAÇÃO CELULARES.....	25
FIGURA 4: EFEITOS DIRETOS E EFEITOS INDIRETOS DA RADIAÇÃO NA CÉLULA,.....	27
FIGURA 5: EVOLUÇÃO TEMPORAL DOS EFEITOS RESULTANTES DA DEPOSIÇÃO DA RADIAÇÃO IONIZANTE NAS CÉLULAS.....	28
FIGURA 6: ESQUEMA DOS MECANISMOS DE REPARAÇÃO DO ADN.	33
FIGURE 7: CURVAS DE SOBREVIVÊNCIA CELULAR TÍPICA PARA RADIAÇÃO DE ALTA LET E BAIXA LET.	34
FIGURA 8: SUMÁRIO DOS PRINCIPAIS PROCESSOS DE RESPOSTA CELULAR A DIFERENTES TIPOS DE DANOS.	39
FIGURA 9: FASES PRINCIPAIS DO PROCESSO METASTÁTICO NO TECIDO ÓSSEO DE TUMORES PRIMÁRIOS DA PRÓSTATA	47
FIGURA 10: REPRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA E ORGANIZAÇÃO DO TECIDO ÓSSEO.....	56
FIGURA 11: CICLO VICIOSO DA INTERAÇÃO DAS CÉLULAS TUMORAIS COM AS CÉLULAS DO TECIDO ÓSSEO	57
FIGURA 12: ESQUEMA DE CLASSIFICAÇÃO DE DANOS DO ADN.....	100
FIGURA 13: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS PRINCIPAIS FASES DO SIMULADOR MCDS.....	101
FIGURA 14: ESQUEMA DOS DIFERENTES MÉTODOS UTILIZADOS NA PRESENTE DISSERTAÇÃO.....	117
FIGURA 15: RESUMO DAS LESÕES PROVOCADAS NO ADN DETERMINADAS PELO USO DO SIMULADOR MCDS. PERCENTAGEM TOTAL DAS SSB RADIOINDUZIDAS APÓS IRRADIAÇÃO COM OS DIFERENTES ISÓTOPOS.	125
FIGURA 16: RESUMO DAS LESÕES PROVOCADAS NO ADN DETERMINADAS PELO USO DO SIMULADOR MCDS. (B) PERCENTAGEM DE DUAS OU MAIS SSB NA MESMA SEQUÊNCIA DE ADN (2SSB), DUAS OU MAIS SSB EM SEGMENTOS OPOSTOS SEPARADOS POR 10 OU MAIS Pb (2 OU +SSB)..	125
FIGURA 17: RESUMO DAS LESÕES PROVOCADAS NO ADN DETERMINADAS PELO USO DO SIMULADOR MCDS. FRAÇÃO DE SSB COMPLEXAS APÓS IRRADIAÇÃO COM OS DIFERENTES ISÓTOPOS.	126
FIGURA 18: RESUMO DAS LESÕES PROVOCADAS NO ADN DETERMINADAS PELO USO DO SIMULADOR MCDS. PERCENTAGEM TOTAL DAS DSB RADIOINDUZIDAS APÓS IRRADIAÇÃO COM OS DIFERENTES ISÓTOPOS..	126
FIGURA 19: RESUMO DAS LESÕES PROVOCADAS NO ADN DETERMINADAS PELO USO DO SIMULADOR MCDS. PERCENTAGEM DE UMA DSB E UMA OU MAIS SSB SEPARADAS POR NO MÁXIMO 10 Pb (1 OU +DSB).....	127
FIGURA 20: RESUMO DAS LESÕES PROVOCADAS NO ADN DETERMINADAS PELO USO DO SIMULADOR MCDS. FRAÇÃO DE DSB COMPLEXAS APÓS IRRADIAÇÃO COM OS DIFERENTES ISÓTOPOS.	127
FIGURA 21: RESULTADOS DOS MECANISMOS DE REPARAÇÃO DO ADN OBTIDOS PELO USO DO SIMULADOR MCER. PROBABILIDADE DE UMA REPARAÇÃO CORRETA (P COR).	128
FIGURA 22: RESULTADOS DOS MECANISMOS DE REPARAÇÃO DO ADN OBTIDOS PELO USO DO SIMULADOR MCER. PROBABILIDADE DE REPARAÇÃO COM MUTAÇÕES (P MUT).....	129

FIGURA 23: RESULTADOS DOS MECANISMOS DE REPARAÇÃO DO ADN OBTIDOS PELO USO DO SIMULADOR MCER.	
PROBABILIDADE DE UMA REPARAÇÃO COM EVOLUÇÃO PARA DSB (P DSB).....	129
FIGURA 24: RESULTADOS DOS MECANISMOS DE REPARAÇÃO DO ADN OBTIDOS PELO USO DO SIMULADOR MCER.	
NÚMERO MÉDIO DE CICLOS NECESSÁRIOS PARA REPARAÇÃO.....	130
FIGURA 25: RESUMO DA FRAÇÃO DE SOBREVIDA APÓS IRRADIAÇÃO COM OS DIFERENTES ISÓTOPOS COM O SIMULADOR VC	
COM E SEM O ^{223}Ra	131
FIGURA 26: FRAÇÃO DE SOBREVIDA MÉDIA APÓS IRRADIAÇÃO COM OS DIFERENTES ISÓTOPOS COM O SIMULADOR VC.	132
FIGURA 27: RESUMO DOS DANOS LETAIS PROVOCADOS NO ADN APÓS IRRADIAÇÃO COM OS DIFERENTES RADIOISÓTOPOS	
COM O SIMULADOR VC. RESULTADOS COM E SEM O ^{223}Ra	133
FIGURA 28: MÉDIA DOS DANOS LETAIS PROVOCADOS NO ADN APÓS IRRADIAÇÃO COM OS DIFERENTES ISÓTOPOS COM O	
SIMULADOR VC.	134
FIGURA 29: PROBABILIDADE DE AUMENTO DA INSTABILIDADE GENÉTICA.....	135
FIGURA 30: FREQUÊNCIA DE TRANSFORMAÇÃO NEOPLÁSICA (A) E VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA DE TRANSFORMAÇÃO	
NEOPLÁSICA (B) EM CÉLULAS IRRADIADAS COM DIFERENTES AGENTES.....	136
FIGURA 31: FREQUÊNCIA DE TRANSFORMAÇÃO NEOPLÁSICA (A) E VALORES MÉDIOS DE FREQUÊNCIA DE TRANSFORMAÇÃO	
NEOPLÁSICA (B) NAS CÉLULAS SOBREVIVENTES APÓS IRRADIAÇÃO COM OS DIFERENTES AGENTES.	137
FIGURA 32: COMPARAÇÃO ENTRE O NÚMERO DE CÉLULAS NORMAIS DA PRÓSTATA SOBREVIVENTES	140
FIGURA 33: COMPARAÇÃO ENTRE O NÚMERO DE CÉLULAS NEOPLÁSICAS DA PRÓSTATA SOBREVIVENTES	141
FIGURA 34: COMPARAÇÃO ENTRE O NÚMERO DE CÉLULAS METASTÁTICAS DA PRÓSTATA SOBREVIVENTES.....	142
FIGURA 35: NÚMERO MÉDIO DE CÉLULAS SOBREVIVENTES EM FUNÇÃO DOS RADIOISÓTOPOS E DA CINÉTICA CELULAR ..	143

Índice de Tabelas

TABELA 1. EXEMPLOS DE GENES IMPORTANTES NO PROCESSO DE CARCINOGENÉSE CELULAR.	18
TABELA 2. CARATERIZAÇÃO TEMPORAL DOS PRINCIPAIS EFEITOS DA RADIAÇÃO NO TECIDO ALVO.	29
TABELA 3. QUANTIFICAÇÃO DE DIFERENTES EVENTOS E EFEITOS BIOLÓGICOS APÓS A IRRADIAÇÃO COM 1 GY DE DIFERENTE QUALIDADE NUMA CÉLULA DE MAMÍFEROS.....	35
TABELA 4. PRINCIPAIS PARÂMETROS CINÉTICOS DE DIFERENTES FENÓTIPOS DAS CÉLULAS DA PRÓSTATA.....	61
TABELA 5. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS RADIOISÓTOPOS ATUALMENTE EM USO CLÍNICO OU SOB INVESTIGAÇÃO PARA TERAPIA PALIATIVA DAS METÁSTASES ÓSSEAS.	71
TABELA 6. SUMÁRIO DAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO DECAIMENTO RADIOATIVO DO ^{32}P	73
TABELA 7. SUMÁRIO DAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS DECAIMENTOS RADIOATIVOS DO ^{89}Sr	74
TABELA 8. SUMÁRIO DAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS DECAIMENTOS RADIOATIVOS DO ^{90}Y	76
TABELA 9. SUMÁRIO DAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS PRINCIPAIS DECAIMENTOS RADIOATIVOS DO $^{117\text{M}}\text{Sn}$	77
TABELA 10. SUMÁRIO DAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS PRINCIPAIS DECAIMENTOS RADIOATIVOS DO ^{153}Sm	79
TABELA 11. SUMÁRIO DAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS PRINCIPAIS DECAIMENTOS RADIOATIVOS DO ^{166}Ho	81
TABELA 12. SUMÁRIO DAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS PRINCIPAIS DECAIMENTOS RADIOATIVOS DO ^{170}Tm	82
TABELA 13. SUMÁRIO DAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS PRINCIPAIS DECAIMENTOS RADIOATIVOS DO ^{177}Lu	84
TABELA 14. SUMÁRIO DAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS PRINCIPAIS DECAIMENTOS RADIOATIVOS DO ^{186}Re	86
TABELA 15. SUMÁRIO DAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS PRINCIPAIS DECAIMENTOS RADIOATIVOS DO ^{188}Re	88
TABELA 16. SUMÁRIO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS PRINCIPAIS DECAIMENTOS RADIOATIVOS DO ^{223}Ra	89
TABELA 17. SUMÁRIO DOS RESULTADOS CLÍNICOS DOS TRATAMENTOS PALIATIVOS DAS METÁSTASES ÓSSEAS COM DIFERENTES RADIOFÁRMACOS.....	93
TABELA 18. CLASSIFICAÇÃO DAS DIFERENTES QUEBRAS DO ADN	101
TABELA 19. COMPARAÇÃO DE RESULTADOS OBTIDOS COM O MCDS COM OS VALORES TEÓRICOS ESPERADOS PARA DIFERENTES ESPECTROS DE DANOS.	104
TABELA 20. CONDIÇÕES DE <i>INPUT</i> SIMULADORES MCDS E MCER.	122
TABELA 21. CONDIÇÕES DE <i>INPUT</i> COMUNS DO SIMULADOR VC.	123
TABELA 22. CONDIÇÕES ESPECÍFICAS DE <i>INPUT</i> UTILIZADAS NO SIMULADOR VC.	124
TABELA 23. PROBABILIDADE DE CONTROLO TUMORAL APÓS IRRADIAÇÃO COM ^{223}Ra	139

Lista de Abreviaturas

α – Alfa

β – Beta

^{117m}Sn – Estanho-117m

^{153}Sm – Samário-153

^{166}Ho – Hólmio-166

^{170}Tm – Túlio-170

^{177}Lu – Lutécio-177

^{186}Re – Rénio-186

^{188}Re – Rénio-188

^{223}Ra – Rádio-223

^{32}P – Fósforo-32

^{89}Sr – Estrôncio-89

^{90}Y – Ítrio-90

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

AIF – Fator Indutor de Apoptose

AP – Apurínico

ARN – Ácido Ribonucleico

BAP – Fosfatase Alcalina Especifica do Osso

BER – Reparação por Excisão de Bases

bFGF – Fator de Crescimento Básico dos Fibroblastos

BMPs – Proteínas Morfogenéticas do Osso

bp – Pares de Base

BSP – Sialoproteína Óssea

CDKIs – Inibidores de Quinases Dependentes de Ciclina

CDKs – Quinases Dependentes de Ciclina

CT – Tomografia Computacional

DOTA – 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-ácido tetra-acético

DOTMP – Ácido Tetra-Azaciclo-Dodecano Tetra-Metileno-Fosfónico

DPD – Deoxipiridinolina

DSB – Quebra Dupla (*Double Strand Break*)

DTPA – Ácido Dietileno-Triamina-Pentacético

EDTMP – Ácido Tetra-Metilfosfonico-Etilenodiamina

EMA – Agencia Europeia de Medicamentos

EMC – Matriz Extracelular

FDA – Agencia Americana de Controlo de Alimentação e Drogas

FDG – Fluorodeoxiglucose

GF – Fração celular em crescimento

HEDP – Hidroxietileno Difosfonato

ICRU – Comissão Internacional de Unidades de Radiação

IGF – Fator de Crescimento Semelhante à Insulina

K_D – Taxa de Morte Celular

K_P – Percentagem de proliferação

LET – Transferência Linear de Energia

LPL – Modelo Linear Letal - Potencialmente Letal

LQ – Linear quadrático

MCDS – Monte Carlo Damage Simulator

MCER – Monte Carlo Excision Repair

MDP – Metildifosfato

MMR – Reparação por Erro de Emparelhamento

MRI – Imagem por Ressonância Magnética

NER – Reparação por Excisão de Nucleótidos

NHEJ – Recombinação Não-Homóloga

OER – Razão de Enriquecimento em Oxigénio

OPG – Osteoprotegrina

PDTMP - Ácido 1,2-Propileno-Diamino-Tetrametil-1-Enefosfórico

PET – Tomografia de Emissão de Positrões

PSA – Antígeno Específico da Próstata

PTHrP – Proteína Relacionada com a Hormona Tiroideia

PYD – Piridinolina

PYP – Pirofosfato de Sódio

RANKL – Ligante Receptor-Ativador do Fator Nuclear $\kappa\beta$

RBE – Eficiência Biológica Relativa
RMR – Modelo Linear Reparação - Não Reparação
SSB – Quebra Simples (*Single Strand Break*)
 T_c – Tempo de ciclo celular
 T_D – Tempo de duplicação do volume tumoral
TGF- β – Fator de Transformação do Crescimento Beta
TLK – Modelo Cinético de Duas Lesões
 T_{pot} – Tempo potencial de duplicação do volume tumoral
TTF – Transferase Termina
VC – Virtual Cell
VEGF-A – Fator de Crescimento Vascular Endotelial A

Capítulo 1

INTRODUÇÃO E ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

1.1 INTRODUÇÃO

As metástases ósseas são uma das mais importantes complicações associadas ao desenvolvimento e proliferação de células tumorais malignas. Estas são também um dos maiores problemas que um doente com cancro pode experienciar, sendo que cerca de 80-100% dos doentes que morrem de cancro da próstata, mama e pulmão possuem metástases ósseas. De entre esses doentes, mais de 75% experienciam dores ósseas incapacitantes e cerca de 50% desses reportam analgesia inadequada.¹ O cancro da próstata é o segundo cancro mais frequente no homem em todo o mundo e estima-se que cerca de 65-75% dos doentes com este tumor maligno desenvolvem metástases ósseas.²

O alívio dos sintomas induzidos pelas metástases ósseas pode ser conseguido por via de tratamentos de radiação externa, com taxas de sucesso a rondar os 80%. Contudo com o uso dessa modalidade de irradiação corporal externa, todos os tecidos no campo de irradiação estão expostos a elevados níveis de radiação, o que pode causar efeitos secundários consideráveis, em particular para os tecidos saudáveis que se encontram à volta do tecido tumoral. Por sua vez a terapia com recurso a radiofármacos é menos invasiva, tipicamente melhor tolerada e produz resultados no alívio da dor de forma semelhante. Contudo, são necessários estudos para investigar, nomeadamente, quais as melhores vias de administração, doses, frequência de administração e radioisótopos que garantam a otimização da captação do radiofármaco pelo tecido alvo. Atualmente, a seleção do radioisótopo a utilizar na terapia paliativa de metástases ósseas é geralmente realizada com base na facilidade de aceso e custo do mesmo e não pela sua real eficiência terapêutica.

Vários estudos tem vindo a ser realizados com o intuito de aumentar o número de radiofármacos existentes para o tratamento paliativo das metástases ósseas, contudo, até à data, estudos comparativos que investigam todos os radioisótopos no mesmo cenário radiobiológico são limitados ou inexistentes. Esta Dissertação apresenta os resultados de um estudo comparativo dos diferentes radioisótopos com potencial terapêutico no contexto da terapia paliativa das metástases ósseas obtidos com recurso a simuladores computacionais, retirando partido do fato dos simuladores computacionais apresentarem um baixo custo e

uma maior rapidez na obtenção dos resultados que as análises realizadas em culturas celulares. Através do estudo das lesões na estrutura do ADN de uma célula irradiada é possível determinar a probabilidade desta subsequentemente ser conduzida à morte celular, nomeadamente por via da apoptose. Nesta Dissertação simula-se as lesões no ADN provocadas pela radiação pelo uso de simulador Monte Carlo Damage Simulator (MCDS). Para além disso, o simulador Monte Carlo Excision Repair (MCER) é utilizado neste trabalho para simular o rendimento de cada mecanismo de reparação celular intrínseco e por último o simulador Virtual Cell (VC) é utilizado para simular a eficiência radiobiológica da radiação numa população celular. Nesta Dissertação, as populações celulares em estudo são células saudáveis da próstata em comparação com células com perfil neoplásico e células metastáticas.

1.2 OBJECTIVOS

Estudos e publicações recentes documentam o interesse da terapia com recurso a radiação, com múltiplas aplicações na área oncológica, constituindo assim um tema de particular interesse nos dias de hoje. Neste sentido, estudos radiobiológicos, como o que se realiza na presente Dissertação, são absolutamente pertinentes e necessários para de uma forma simples e económica melhor se caracterize a natureza dos efeitos produzidos pelos diferentes radioisótopos em diferentes cenários radiobiológicos, bem como o seu potencial terapêutico, para melhor desenhar, planificar e realizar o tratamento paliativo de metástases ósseas.

Assim, com esta Dissertação “Avaliação e Caraterização por Métodos Computacionais de Diferentes Radioisótopos no Contexto da Terapia Paliativa de Metástases Ósseas”, espera-se contribuir para um maior conhecimento científico sobre:

- A avaliação dos efeitos radiobiológicos das principais emissões de cada radioisótopo para terapia paliativa de metástases ósseas em vários cenários de irradiação;

- A análise comparativa de onze radioisótopos para terapia paliativa das metástases ósseas no contexto do cancro da próstata, nas mesmas condições experimentais;
- O eventual potencial terapêutico de cada radioisótopo estudado, nomeadamente através da análise dos efeitos radiobiológicos produzidos pelas principais emissões de cada um.

Por outro lado, esta Dissertação pretende ser um documento conciso do estado da ciência no que refere a radioisótopos e radiofármacos atualmente em uso na prática clínica e sob investigação para o tratamento paliativo de metástases ósseas.

1.3 ESTRUTURA

Pretendeu-se organizar a presente Dissertação de forma autónoma e independente para facilitar o acesso aos diversos temas abordados e estruturados em sete capítulos. Assim, descreve-se de seguida sucintamente o tema central de cada um dos restantes seis capítulos:

- **Capítulo 2: Ciclo Celular, Carcinogénese e Radiobiologia Celular**

Neste capítulo realiza-se uma descrição global, dos principais conceitos do ciclo celular, bem como a relação deste com a morte celular programada. Descreve-se ainda os mecanismos de reparação intrínsecos da célula em resposta a alterações na estrutura do ADN e ainda o processo carcinogénico. São também abordados neste capítulo as noções básicas de radiobiologia celular, nomeadamente, sobrevivência celular, resposta celular à irradiação e efeitos diretos e indiretos da radiação. Este capítulo reveste-se de capital importância pois para a compreensão do restante documento é essencial que se compreenda os princípios associados ao funcionamento do ciclo celular, do processo de carcinogénese e da radiobiologia.

- **Capítulo 3: Metástases Ósseas**

O terceiro capítulo expõe as principais etapas associadas à ocorrência do processo metastático a partir do tumor primário, com particular ênfase nas metástases ósseas de tumores primários da próstata, dado que a presente Dissertação foca-se na avaliação do efeito da radiação nesse tipo específico de células. Para além disso, no capítulo 3 descrevem-se os mecanismos inerentes à ocorrência frequente de metástases no tecido ósseo. Neste capítulo é também feita uma síntese dos principais sinais e sintomas característicos das metástases ósseas, bem como dos métodos de deteção e tratamento das mesmas.

- **Capítulo 4: Radiofármacos para Terapia Paliativa das Metástases Ósseas**

Neste capítulo define-se o conceito de radiofármaco e são apresentadas as características físicas de todos os radioisótopos em estudo, tais como, o tipo de decaimento, a energia de emissão e o tempo de semi-vida. Para além disso, apresenta-se o resultado da pesquisa bibliográfica sobre os dados clínicos e os estudos realizados com os radiofármacos em uso ou sob investigação para o tratamento paliativo da dor óssea.

- **Capítulo 5: Simuladores em Radiobiologia**

O quinto capítulo expõe o princípio de funcionamento, as vantagens e desvantagens dos simuladores de radiobiologia celular, bem como os comandos de entrada de dados e as informações obtidas nos ficheiros de saída dos simuladores utilizados. Sendo eles o MCDS, para avaliação dos danos radioinduzidos no ADN, o simulador MCER, para avaliação dos processos de reparação dos danos ao ADN, e o simulador VC, para avaliação da cinética celular após irradiação.

- **Capítulo 6: Simulações, Resultados e Análise**

Os radioisótopos estudados foram o Fósforo-32 (^{32}P), o Estrôncio-89 (^{89}Sr), o Ítrio-90 (^{90}Y), o Estanho-117m ($^{117\text{m}}\text{Sn}$), o Samário-153 (^{153}Sm), o Hólmio-166 (^{166}Ho), o Túlio-170 (^{170}Tm), o Lutécio-177 (^{177}Lu), o Rénio-186 (^{186}Re), o Rénio-188 (^{188}Re) e o

Rádio-223 (^{223}Ra). As células estudadas foram as células normais da próstata, células com perfil neoplásico da próstata e células com fenótipo metastático da próstata em populações quiescentes, heterogêneas e em divisão. Este capítulo apresenta assim os resultados obtidos com os diferentes simuladores, para os diferentes agentes e tipos celulares, bem como a sua análise e discussão.

- **Capítulo 7: Conclusões Finais e Perspetivas Futuras**

Neste último capítulo expõe-se as conclusões finais do trabalho desenvolvido durante a execução da presente Dissertação e a respetiva justificação e apresentam-se as perspetivas para desenvolvimentos futuros.

1.4 CONTRIBUIÇÕES PRINCIPAIS

Como principais contribuições desta Dissertação salientam-se o estudo radiobiológico aprofundado de vários radioisótopos no âmbito da terapia paliativa de metástases ósseas com recurso a simuladores computacionais, bem como a revisão bibliográfica e organizada de informação pertinente num único documento. Para além disso, a classificação do potencial terapêutico dos diferentes radioisótopos atualmente em uso clínico ou sob investigação para tratamento paliativo das metástases ósseas num mesmo estudo constitui outra contribuição inovadora desta Dissertação, num campo de intensa pesquisa e interesse contínuo, bem como a realização de dois artigos científicos sobre o tema:

- Um artigo com dados originais submetido com o título, *Comparative analysis of eleven different radioisotopes for palliative treatment of bone metastases by computational methods*.
- Um artigo de revisão em desenvolvimento à data de submissão da presente Dissertação com o título, *The role of radioisotope therapy in the palliative treatment of metastatic bone pain*, (em preparação).

Capítulo 2

CICLO CELULAR, CARCINOGENÉSE E RADIOBIOLOGIA CELULAR

2.1 INTRODUÇÃO

O ciclo celular é um processo dinâmico rigorosamente controlado por fatores de crescimento e citocinas, que garantem uma replicação exata do ácido desoxirribonucleico (ADN) celular. Estas proteínas de controlo são geralmente produzidas em genes específicos designados por proto-oncogenes ou por supressores tumorais, devido ao seu papel crucial no impedimento da carcinogénese. Uma qualquer mutação num proto-oncogene, origina uma sequência genómica mutada designada por oncogene que favorece o desenvolvimento celular e a sua proliferação, por outro lado, uma mutação dos genes supressores tumorais limita a capacidade da célula evitar a proliferação excessiva. Uma célula mutada, nem sempre conduz ao aparecimento de uma célula carcinogénica, pois as células possuem mecanismos de reparação intrínsecos que detetam as mutações e sempre que possível realizam a sua reparação. Quando a reparação é impossível, a célula pode ser encaminhada para fora do ciclo celular, ficando quiescente ou pode iniciar um processo de morte celular. Uma célula carcinogénica tem, por isso, que evitar os mecanismos de reparação e evitar os mecanismos de morte celular, para poder proliferar. Neste capítulo serão descritos os princípios do ciclo celular, bem como os principais mecanismos de reparação ou morte celular, e ainda os principais passos do processo de carcinogénese, dado que todos estes conceitos são essenciais à compreensão da restante Dissertação.

A radiobiologia é a ciência que estuda as interações da radiação com o tecido vivo, em particular com a cinética celular, pois o ADN é extremamente sensível a radiação ionizante. A radiação ionizante em contato com o ADN provoca lesões na sua estrutura que podem alterar drasticamente a cinética celular ou mesmo desencadear a morte celular programada. Neste capítulo pretende-se fornecer uma abordagem sucinta dos princípios de radiobiologia celular, de forma a facilitar a interpretação dos resultados do presente trabalho.

2.2 PRINCÍPIOS DO CICLO CELULAR

De um modo geral, as células crescem, aumentam o seu conteúdo e por fim dividem-se. Cada célula origina duas células-filha que, se tudo ocorrer dentro da

normalidade, serão geneticamente idênticas à célula-mãe. Por sua vez, estas células-filhas podem tornar-se células-mães da geração seguinte. Assim, a vida de uma célula começa quando esta surge a partir da célula-mãe e acaba, quando ela própria se divide para originar duas células-filha. O conjunto de transformações e processos que decorrem desde a formação da célula até ao momento em que ela própria se divide constitui um processo dinâmico e contínuo, denominado ciclo celular.

Durante a divisão celular, os organelos, as enzimas e outros constituintes da célula são distribuídos de igual modo pelas células-filha. O ADN é exatamente autoduplicado e as cópias rigorosamente divididas. É esta fidelidade na duplicação e na distribuição do material genético pelas células-filha que assegura a continuidade genética.

Todo o procedimento do ciclo celular é controlado por diversas proteínas e enzimas que além de garantirem a ausência de erros, asseguram a coordenação da cinética do ciclo, isto é, a duração de cada fase específica do processo e o tempo total necessário para que todo o processo ocorra. Uma mutação numa proteína ou enzima de controlo pode ter consequências significativas na cinética celular. Por exemplo, as células carcinogénicas, em geral, têm uma duração do ciclo celular muito inferior às células normais, devido a alterações em genes elementares no controlo do ciclo celular, designados por oncogenes ou supressores tumorais.

O ciclo celular é dividido em 4 fases distintas: fase G1, fase S, fase G2 e fase mitótica ou M. A duração de cada fase varia para cada tipo de célula, contudo os processos ocorridos em cada fase são idênticos para todas as células. O ciclo celular visa assegurar que o ADN de uma dada célula é fielmente replicado durante a fase S e posteriormente igualmente dividido na fase M.

- **Fase G1**

Nesta fase, ocorrem os processos de preparação para a síntese de ADN, por via da mobilização de bases púricas e pirimídicas, dos fosfatos e das riboses, para a síntese de nucleótidos. Para além disso, nesta fase são também mobilizados aminoácidos para a síntese de proteínas e enzimas. Esta fase caracteriza-se por uma intensa atividade biosintética, nomeadamente, proteínas, enzimas e ácido ribonucleico (ARN). Ocorre ainda a formação de organelos celulares e subsequente

crescimento da célula. Estes processos de biossíntese são indispensáveis para que a célula passe da fase G1 para a fase S.

- **Fase S**

Nesta fase, o ADN é inteiramente duplicado, sendo que as novas moléculas associam-se às respetivas proteínas e a partir desse momento cada cromossoma passa a ser constituído por dois cromátídeos ligados pelo centrómero. Ao nível do citoplasma de células animais, ocorre ainda a duplicação de feixes curtos de microtúbulos, denominados centríolos, que se encontram localizados no citoplasma de células eucariontes.

- **Fase G2**

Durante esta etapa são produzidas as moléculas que serão necessárias durante a Fase M, ocorrendo também a uma avaliação para comprovar que a replicação do ADN ocorreu na ausência de erros.

- **Fase mitótica ou M**

A fase mitótica é comumente dividida em duas etapas principais: a mitose, que corresponde à divisão do núcleo, e a citocinese, que corresponde à divisão do citoplasma. A mitose, embora seja um processo contínuo, é convencionalmente subdividida em prófase, metáfase, anáfase e telófase. A prófase é, de um modo geral, a etapa mais longa da mitose. Nesta fase, sucede a condensação dos cromossomas, tornando-se mais espessos e curtos, e os dois centríolos começam a afastar-se em sentidos opostos, formando-se o fuso acromático. Na metáfase os cromossomas atingem o máximo de encurtamento, o fuso acromático fica completo e os centríolos atingem os pólos da célula. Para além disso, os cromossomas orientam-se com os centrómeros no plano equatorial, voltados com as terminações para o exterior. Durante a anáfase surge a clivagem dos centrómeros, separando-se os dois cromátídeos que passam a constituir dois cromossomas independentes. Durante esta fase ocorre a ascensão dos cromossomas filhos aos polos da célula. Por ultimo, na telófase, a membrana nuclear reorganiza-se em torno dos cromossomas de cada célula-filha, o fuso mitótico é degradado e os cromossomas descondensam,

terminado assim a mitose. A citocinese caracteriza-se pela divisão do citoplasma e consequente individualização de cada célula-filha. Este processo começa a ser preparado durante a fase final da mitose com a formação do anel contráctil de filamentos proteicos. Durante a citocinese estes filamentos contraem-se e puxam a membrana celular para o interior da célula, causando um sulco de clivagem, que vai lentamente estrangulando o citoplasma até separar as células-filha.³

A passagem da célula de uma fase do ciclo celular para a seguinte é firmemente regulado por um conjunto de controlos que regulam a transcrição dos genes das ciclinas, a degradação das ciclinas e a modificação da subunidade das quinases pela fosforização. Um conjunto de mecanismos de *feedback* positivos e negativos contribui para o controlo do ciclo celular. O controlo do ciclo celular é maioritariamente regulado pelas quinases dependentes da ciclina (CDKs - *cyclin dependent kinases*) e pelos inibidores das quinases dependentes da ciclina (CKIs - *cyclin dependent kinase inhibitors*), que estão presentes durante todo o ciclo celular. De uma forma geral, os complexos CDKs e as ciclinas são reguladores positivos e aceleram a progressão das células no ciclo celular, enquanto os CKIs impedem/travam a progressão das células no ciclo celular.

O complexo CDK, quando ativado, induz a ativação ou inativação de várias proteínas, por via da fosforilação, necessárias à progressão da célula no ciclo celular. Nas células dos mamíferos, subunidades de quinases (CDK4, CDK6, CDK2 e CDK1), juntamente com ciclinas (cyclin D, E, A, e B), são expressas conforme a célula avança da fase G1 até à fase M.⁴ Por exemplo, o complexo CDK4 e CDK6 com a ciclina D atuam na parte inicial da fase G1, provavelmente em resposta a fatores de crescimento. Por outro lado, os complexos CDK2 ligados à ciclina E ou A são essenciais à transição entre a fase G1 e S, bem como à replicação do DNA. Finalmente, o complexo CDK2 ligado à ciclina A ou B é essencial para a mitose.

Existem dois grupos de CKIs: (1) CKIs membros da família INK, que incluem, INK4A (p16), INK4B (p15), INK4C (p18) e INK4D (p19), os quais exercem a sua capacidade inibitória por via da ligação à CDK4 e CDK6, prevenindo assim a sua ligação a ciclina D; e (2) CKIs membros da família CIP/KIP, que incluem, CIP1 (p21), KIP1 (p27) e KIP2 (p57). A CIP1, por exemplo, é um dos efetores mais importantes do

p53, que é uma proteína supressora tumoral importante nos pontos de avaliação do ADN.⁴ Uma representação esquemática das principais atividades das CDKs e das CDKIs é apresentada na Figura 1.

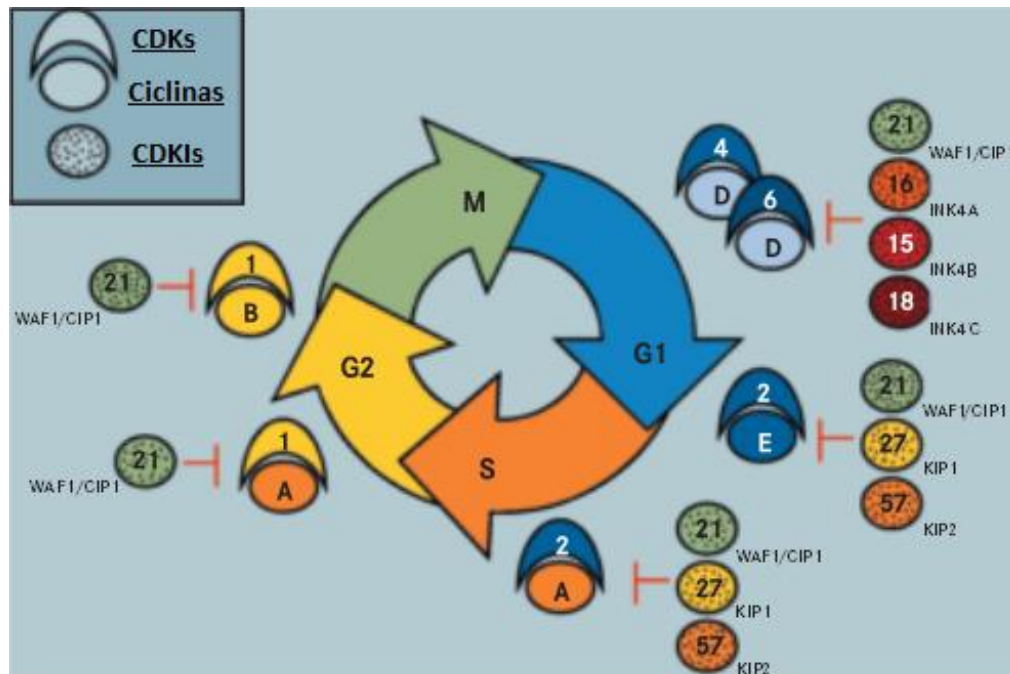


Figura 1: Esquema das diferentes fases do ciclo celular e principais processos de regulação e progressão do mesmo por via de diversos complexos de CDK e CDKI. Adaptado de Stewart e Kleihues, 2003.⁵

Como referido acima, uma importante proteína no controlo do ciclo celular é a *p53*, a qual quando ligada ao ADN, ativa a transcrição da proteína *p21*, que subsequentemente impede a ativação de uma CDK necessária para a progressão na fase G1. Este bloqueio permite à célula ter tempo suficiente para reparar os danos de ADN antes da replicação do mesmo, ou, caso tal não seja possível porque o ADN apresenta lesões muito extensas que não podem ser reparadas, possibilita a iniciação do processo de morte celular programada. Outras proteínas que interrompem o ciclo celular através da inibição de CDKs são o *p16* e o *RB*. Devido ao seu papel fundamental no controlo do ciclo celular, mutações nos genes que produzem estas proteínas têm sido identificadas como uma característica comum ao aparecimento de cancros, pelo que esses genes são denominados de genes supressores tumorais.⁵

Durante o ciclo celular existem etapas de avaliação interna que determinam a progressão ou interrupção do ciclo celular, designados por *checkpoints*. O *checkpoint* 1 ocorre no final da fase G1 e o *checkpoint* 2 ocorre no final a fase G2. Estes *checkpoints* são controlados por uma série de CDKs.⁶ Se o resultado da avaliação for negativo, as células param o seu processo de divisão e permanecem num período prolongado de repouso, denominado fase G0, por tempo indeterminado ou até à sua morte. Nesta fase G0, as células apresentam uma menor atividade metabólica e não respondem aos estímulos que normalmente iniciam a síntese de ADN. Se pelo contrário, a avaliação efetuada for positiva, as células prosseguem para a fase seguinte do ciclo celular.

A duração das subfases do ciclo celular varia com o tipo de célula animal ou vegetal, tipo de tecido e com o estado de desenvolvimento do organismo. Tipicamente o tempo de duplicação celular humana varia entre 10 a 40 horas com a fase G1 a durar 30%, a fase S 50%, a fase G2 15% e a mitose 5% do tempo do ciclo celular.⁷

2.3 CARCINOGENESE

As células cancerosas proliferam, tornando-se geralmente em massas altamente desorganizadas, e todo o seu processo de crescimento e divisão é desregulado. Existem essencialmente seis alterações na estrutura e biologia celular que caracterizam o crescimento e proliferação celulares malignos. Estas alterações estão presentes em todos os tipos de cancro e incluem: (1) sinalização autossuficiente de desenvolvimento; (2) insensibilidade aos inibidores de crescimento; (3) evasão à apoptose; (4) potencial replicativo ilimitado; (5) vascularização muito sustentada; e (6) invasão tecidular e metástases. A instabilidade genómica, resultante do crescimento mutagénico desregulado, é considerado o principal fator para a manifestação destas alterações celulares.⁴

Atendendo aos eventos supranumerados, o cancro pode ser definido como uma doença onde um grupo anormal de células cresce incontrolavelmente. As células normais estão constantemente sujeitas a um conjunto de estímulos que ditam se estas se devem dividir, diferenciar ou morrer. Contrariamente, as células

tumorais desenvolvem um grau de autonomia em relação a esses estímulos, devido a alterações a nível do genoma celular que se observam nas células tumorais em comparação com as células normais. Estas mutações produzem proteínas que comprometem o equilíbrio entre a divisão celular, quiescência e morte celular, resultando em células que entram em divisão desregulada. Para além disso, em contraste com as células normais, as células cancerosas conseguem invadir e proliferar noutros tecidos que não os seus de origem. Assim, o crescimento sem controlo e a proliferação noutros tecidos são característicos que distinguem as células cancerosas das células normais.

O processo de conversão de uma célula normal para uma célula cancerosa é dividido em três fases principais: iniciação, promoção e progressão. Durante a fase de iniciação da carcinogénese, uma alteração permanente no genoma da célula garante-lhe uma vantagem no crescimento em relação as células vizinhas. A maioria das mutações iniciais ocorrem em genes supressores tumorais ou em proto-oncogenes. Os proto-oncogenes codificam uma vasta gama de fatores de crescimento, receptores de fatores de crescimento, enzimas ou fatores de transcrição que promovem o crescimento ou divisão celular (Tabela 1). Versões mutadas de proto-oncogenes que promovem a proliferação de células anormais são designados por oncogenes. Os oncogenes ativam as cascatas de sinalização continuamente, resultando num aumento da produção de fatores de crescimento que estimula os crescimento celular. Por exemplo, o *myc* é um proto-oncogene que atua como fator de transcrição. Uma versão mutada do *myc* converte-o num oncogene associado a 70% dos cancros. Outro oncogene é o *ras* que normalmente funciona como um interruptor das cascatas de sinalização. Uma mutação no *ras* causa a abertura permanente da via de sinalização, levando a um crescimento celular descontrolado. Cerca de 30% dos tumores apresentam uma mutação no *ras*, incluindo os carcinomas do pâncreas, tiroide, cólon e pulmões. Por sua vez os genes supressores tumorais evitam a carcinogénese e inibem o crescimento celular, pelo que, a perda destes genes facilita o desenvolvimento tumoral.⁶ As proteínas codificadas pelos genes supressores tumorais atuam, geralmente, ao nível da membrana celular, do citoplasma ou do núcleo. O *RB* e o *p53* são supressores tumorais mais conhecidos. O *p53* é o gene supressor tumoral mais comumente

relacionado com os cancros e o mais amplamente investigado, é um importante fator nos períodos de avaliação do ciclo celular. Conforme referido anteriormente, uma das suas funções em resposta a danos genotóxicos, é atrasar a progressão da célula no ciclo celular numa tentativa de reparar os dados antes da replicação.⁶ Na maioria das células, o *p53* induz a apoptose quando expresso em excesso e é necessário para iniciar o mecanismo de morte celular programada em resposta de lesões no ADN. Apesar de uma vasta gama de oncogenes, os dados apontam para que uma percentagem significativa dos processos de carcinogénese assente principalmente em 2 supressores tumorais, o *RB* e o *p53*, sendo as mutações mais presentes nas células tumorais.⁶ Por exemplo, alterações nestes genes são encontradas em aproximadamente 70% dos cancros do cólon e em 50% dos cancros da mama e pulmão ⁴.

Tabela 1. Exemplos de genes importantes no processo de carcinogénese celular.^{2,6}

Designação	Função/Descrição	Tipo de gene
APC	Regulação da transcrição de genes	Supressor tumoral
BCL2	Estimulação da angiogénese	Oncogene
BRA1	Controlo do ciclo celular	Supressor tumoral
BRA2	Reparação do ADN	Supressor tumoral
HER2	Recepção de fatores de crescimento	Oncogene
<i>myc</i>	Regulação da interação entre biomoléculas	Oncogene
<i>p16 e p21</i>	Inibição de quinases	Supressor tumoral
<i>p53</i>	Regulação da apoptose	Supressor tumoral
<i>ras</i>	Sinalização da cascata do ciclo celular	Oncogene
RB	Regulação do ciclo celular	Supressor tumoral
SIS	Fator de crescimento	Oncogene

A segunda etapa do processo de carcinogénese, isto é, a promoção, estimula o crescimento da célula que sofreu mutação, podendo ocorrer a qualquer momento,

após a transformação celular inicial. Os fatores de promoção podem ser, por exemplo, agentes químicos, processos inflamatórios ou fatores que atuam no crescimento celular normal. Os agentes promotores atuam através da ativação de componentes da cascata de sinalização intracelular ou do aumento de níveis de Ca^{2+} e da produção de enzimas no interior da célula.

Na terceira etapa da carcinogénese, isto é, a progressão, as células mutadas, que possuem vantagem no desenvolvimento e divisão celular, sofrem novamente mais danos. A exposição contínua aos agentes carcinogénicos e promotores faz com que mais lesões apareçam de forma inevitável. Caso estas mutações afetem a capacidade proliferativa e diferencial da célula, então as células mutadas podem tornar-se suficientemente malignas para desencadear o aparecimento de um tumor.

O processo de carcinogénese pode iniciar-se de forma espontânea ou ser provocada por ação de agentes ditos carcinogénicos, os quais podem ser agentes químicos, físicos ou biológicos. Em ambos os casos, verifica-se a indução de alterações mutagénicas ou epigenéticas nas células. Estudos têm vindo a demonstrar que a carcinogénese está frequentemente associada a mutações e anomalias na expressão de várias ciclinas, CDKs e CDKIs. De facto, a expressão aumentada da ciclina D é uma das anomalias mais frequentes no cancro, ocorrendo em cerca de 60% dos casos de cancro da mama e 20% dos casos de cancro da próstata.⁴ Similarmente, mutações ou deleções no gene da INK4A são frequentemente encontradas em várias células malignas ou transformadas humanas, sugerindo que a inativação da INK4A promove uma vantagem seletiva no crescimento celular.

2.4 MORTE CELULAR PROGRAMADA

A apoptose é um mecanismo de morte celular programada e caracteriza-se por ocorrer de forma controlada, não infligindo, por isso, danos às células vizinhas. A morte celular por apoptose ocorre em múltiplas situações fisiológicas normais e problemas na regulação da apoptose podem conduzir ao aparecimento de inúmeras situações patológicas, nomeadamente cancro.³

O processo apoptótico desencadeia-se quando as células recebem um sinal ou estímulo para entrarem em apoptose. Aquando da receção desse sinal ou

estímulo, as células iniciam um vasto conjunto de alterações que culmina na morte da célula. Uma família de proteínas denominada caspases é tipicamente ativada nas fases iniciais do processo, sendo responsável pela degradação de componentes celulares fundamentais para o funcionamento celular normal, incluindo enzimas responsáveis pela reparação do ADN. Por outro lado, as caspases podem ainda ativar enzimas destruidoras, tais como, ADNases, que iniciam a quebra do ADN.

A sensibilidade da célula face a um estímulo apoptótico depende de um número de fatores, tais como, a expressão de proteínas indutoras e anti-apoptóticas, a intensidade do estímulo e o estágio do ciclo celular. A relação entre o ciclo celular e a apoptose é mediada por diversos genes e proteínas, nomeadamente, c-Myc, p53, Rb, ras, PKA, PKC, Bcl-2, NF- κ B, CDK, ciclinas e CDKI. Pelo que, estas proteínas podem induzir proliferação celular, interrupção do ciclo celular ou morte celular programada.

Os componentes do processo apoptótico podem ser divididos em duas grandes partes, os sensores de sinais apoptóticos e os componentes efetores da apoptose. Os sensores apoptóticos monitorizam o ambiente interno e externo da célula para detetar alterações nas condições ambientais que possam influenciar o destino da célula (sobreviver, dividir ou morrer). Estes sensores estão intimamente ligados aos componentes executantes ou efetores, que têm a tarefa de iniciar o processo.

A apoptose pode ser desencadeada por estímulos extrínsecos, através da ligação de indutores de apoptose a receptores da membrana celular, denominados recetores de morte celular. Sinais ou estímulos apoptóticos externos incluem a exposição a toxinas e certas hormonas. Por outro lado, a apoptose pode ser induzida por sinais intrínsecos que produzem stresse celular, devido à exposição à radiação, a químicos ou a vírus, bem como por uma privação de fatores de crescimento ou stresse oxidativo induzido pela formação de radicais livres. Lesões no ADN e ativação do *p53* são eventos iniciais intrínsecos da indução da apoptose. Para além disso, estímulos apoptóticos que atuam a nível das mitocôndrias, provocam uma variedade de alterações nestas, incluindo a produção de radicais livres e a abertura dos poros membranares. Estes eventos levam a libertação de fatores apoptóticos como o citocromo C e o fator indutor de apoptose (AIF, *apoptosis-inducing factor*).⁸ A

resposta celular aos estímulos apoptóticos é fortemente influenciada pela informação genética existente, o microambiente, a extensão de dano no ADN e a concentração de diferentes proteínas.⁶

O equilíbrio entre um processo apoptótico eficaz ou deficiente pode ser um fator crítico para o desencadear e subsequente desenvolvimento do processo de carcinogénese. Defeitos no processo de apoptose pode permitir a sobrevivência de células neoplásicas. Por exemplo, estudos têm demonstrado que o crescimento tumoral em resposta a carcinogénicos químicos está diretamente ligado às alterações nas taxas de apoptose no tecido afetado.⁵ As células tumorais podem evitar a apoptose de várias formas, sendo que a forma mais comum envolve a mutação do gene supressor tumoral *p53*. Dado que o *p53* é um avaliador das lesões de ADN da célula, responsável pelos mecanismos de reparação ou apoptose em resposta aos danos, a sua mutação terá consequências no desenvolvimento de tumores.

A célula em apoptose apresenta uma morfologia distinta e característica, que tem início com a redução do volume celular devido à destruição dos filamentos de actina e lâminas do citoesqueleto. Posteriormente ocorre a quebra da cromatina no núcleo que conduz frequentemente à condensação nuclear e, muitas vezes, o núcleo celular adquire uma aparência em ferradura. De seguida verifica-se uma contínua redução do volume celular, de forma a permitir a posterior remoção dos restos celulares pelos macrófagos. Na fase final da apoptose surgem pequenas esferas membranares, que formam vesículas, denominados corpos apoptóticos. Estas alterações morfológicas são comuns a todas as células em apoptose explícita, independentemente do agente indutor do processo.³ Contrariamente, à apoptose, a morte celular por necrose é caracterizada, morfológicamente, por um aumento do volume citoplasmático e mitocondrial, seguido da ruptura da membrana plasmática e extravasamento do conteúdo celular, induzindo deste modo uma resposta inflamatória, que pode causar dano e, por vezes até morte às células vizinhas. Deste modo, quando a morte celular ocorre por via da necrose, um grande número de células é afetado e lesado durante o processo inflamatório. Em oposição ao processo de retração celular observada aquando do processo apoptótico, na necrose observa-

se um edema celular devido às lesões no citoesqueleto e inibição das bombas de Na^+/K^+ , o que origina a perda da permeabilidade seletiva da membrana.³

Em síntese, na apoptose, as células morrem como resultado de uma grande variedade de estímulos, contudo, o processo é controlado e regulado. Contrariamente a necrose, corresponde à morte celular descontrolada, que conduz ao aparecimento de lise celular e consequente resposta inflamatória (Figura 2).

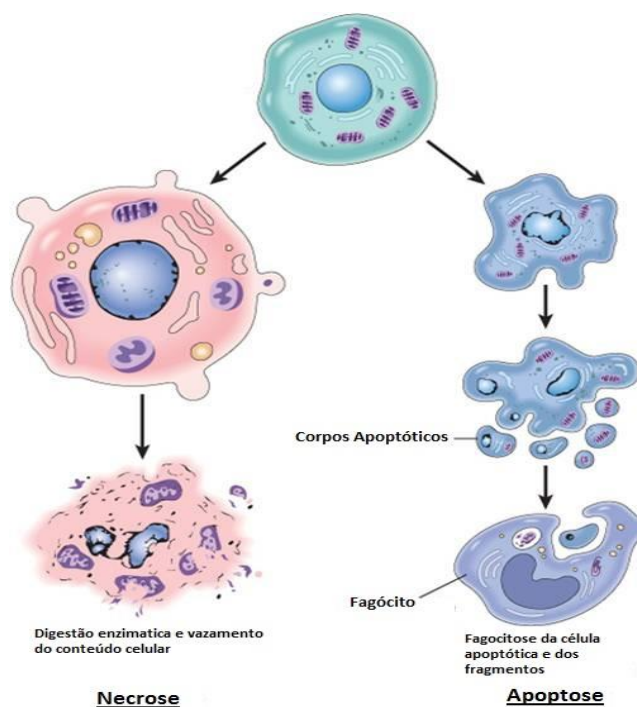


Figura 2: Diferentes características morfológicas das células em apoptose e necrose. Adaptado de Stewart e Kleihues, 2003.⁵

2.5 RADIOBIOLOGIA CELULAR

A radiobiologia é a ciência que estuda a ação da radiação ionizante nas células, nos tecidos biológicos e nos organismos completos, combinando para tal, a física da radiação e a biologia.

Em radiobiologia a qualidade de um feixe de radiação ionizante é caracterizada pela transferência linear de energia (LET), que expressa a energia transferida ao meio por unidade de comprimento do percurso, expressa geralmente em $\text{keV}/\mu\text{m}$. Segundo a *International Commission on Radiation Units* (ICRU), a LET pode ser definida pelo “quociente dE/dl , no qual dE é a energia média localmente

depositada no meio por uma partícula ou radiação de energia especificada ao longo de uma distância dl ". Uma partícula β tem um LET associado que ronda os 0.2 keV/ μ m, enquanto uma partícula α tem um LET associado que varia entre os 90 keV/ μ m e os 300 keV/ μ m.⁹

À medida que a intensidade da ionização aumenta, aumenta também a probabilidade de deposição da energia diretamente no material biológico, ou seja, aumenta a probabilidade de ocorrer interação biológica. Comparada com a radiação eletromagnética, as radiações particuladas tem maior poder ionizante, logo maior probabilidade de interagir com os tecidos. Para além disso, as partículas radioativas perdem a sua energia rapidamente produzindo várias ionizações numa curta distância. De forma a comparar a eficiência de diferentes tipos de radiação, foi desenvolvida uma grandeza escalar designada eficiência biológica relativa (RBE), que descreve quantitativamente o efeito relativo da LET, através de uma comparação da dose de radiação em estudo com uma dose de raios-X de 250 keV. Mais recentemente tem sido proposta uma alteração da quantificação da RBE, no qual a dose de radiação padrão são os raios- γ do ^{60}C e não os raios-X de 250 keV. Em termos gerais, quando a LET aumenta a RBE também aumenta. Em termos matemáticos, a RBE é definida pela razão:

$$RBE = \frac{\text{Dose da radiação padrão para produzir um dado efeito biológico}}{\text{Dose da radiação teste para produzir o mesmo efeito biológico}}$$

A RBE varia não só com o tipo de radiação utilizada, mas também com diferentes tipos de células e tecidos, condições fisiológicas, efeito biológico em estudo, dose, taxa de dose e fracionamento. Um aumento da RBE apenas apresenta interesse terapêutico quando a RBE para o tecido normal é inferior à do tumor, aumentando assim, o nível de morte celular no tumor e a razão alvo:não alvo, melhorando assim a eficácia terapêutica.³ Porém, é hoje reconhecido que as partículas carregadas produzem efeitos únicos que não são produzidos pelas radiações padrão de comparação. Impedindo assim o cálculo rigoroso do RBE nestas situações.

Outro parâmetro importante a avaliar no efeito da radiação é a razão do enriquecimento em oxigénio (OER), que descreve numericamente o efeito do oxigénio, uma vez que a resposta dos tecidos biológicos à radiação é maior quando são irradiados em situação aeróbica do que em condições de anóxia ou hipóxia. O oxigénio é necessário para a formação de radicais livres durante a ionização da água, os quais induzem a formação de H₂O₂. O OER é descrito matematicamente pela equação:

$$OER = \frac{\text{Dose que produz um dado efeito sob condições anoxicas}}{\text{Dose que produz o mesmo efeito em condições aeróbicas}}$$

O valor de OER é fortemente dependente da LET, uma vez que o OER é maior para radiações de baixo LET e é menos eficaz com radiações de alto LET.³

Um dos desafios e objetivos da radiobiologia é compreender como as células reagem ao stress resultante da exposição à radiação. O ADN e a membrana celular são os principais alvos da terapia com radioisótopos, que desencadeiam uma sequência de alterações bioquímicas e fisiológicas nas células, que inibem a proliferação celular ou retardam o ciclo celular, podendo mesmo conduzir a célula à apoptose ou à necrose. Sabe-se que a exposição de células à radiação ionizante resulta em lesões diretas e indiretas no ADN, e a extensão da lesão vai depender do tipo da radiação aplicada, bem como da dose absorvida, entre outros fatores. Tipicamente, quanto maior a densidade ionizante da radiação, maior será a LET, mais complexa será a lesão e consequentemente a reparação do dano.

A principal característica da radiação proveniente de partículas carregadas (por exemplo, partículas β ou α) que distingue dos fótons γ ou dos raios-X, é que a sua deposição de energia ocorre de forma estruturada ao longo do seu percurso, ao passo que os fótons depositam a sua energia de uma forma difusa.¹⁰ Uma outra propriedade importante das partículas carregadas é que estas vão sofrendo um conjunto de reações que produzem múltiplas partículas secundárias (mais frequentemente prótons e neutrões), que estendem o alcance das lesões, para além do percurso inicial da partícula. Pode ser razoável assumir que a distribuição da dose absorvida, definida como a energia total absorvida pelo tecido alvo por unidade de

massa (J/kg ou Gray – Gy)¹⁰, é uniforme pelo alvo (células ou tecidos) para doses de raio-X ou fótons γ , contudo tal não é verdade para partículas carregadas, dado que no caso de partículas carregadas, a energia de deposição no local do partícula pode ser de centenas de Gray mas a alguns micrómetros de distância pode ser perto de zero.¹⁰ Assim, é de elevada importância compreender a relação entre o padrão de deposição de energia e a estrutura do material alvo.

2.5.1 RADIOSENSIBILIDADE CELULAR

Segundo as leis de Bergonie e Tribondeau (1906), quanto mais diferenciada é uma dada célula, maior é a sua radorresistência e quanto maior é a taxa de proliferação, de crescimento e de atividade metabólica da célula, maior é a sua radiosensibilidade. Assim, tecidos ou órgãos em desenvolvimento e proliferação ativa são mais radiosensíveis que tecidos ou órgãos totalmente desenvolvidos e diferenciados (Figura 3). Em 1925, Ancel e Vitemberger modificam a lei de Bergonie e Tribondeau e introduziram a noção de tempo de latência, afirmando que a suscetibilidade das células à lesão por radiação é o mesmo, mas o tempo de aparecimento das lesões produzidas pela radiação varia de acordo com o tipo de célula, quantidade de stresse biológico a que a célula está sujeita, necessidade de divisão da célula e condições de pré- e pós-irradiação da célula exposta.

Grau de Radiossensibilidade	•Características Celulares
Muito Alta	<ul style="list-style-type: none"> • Indiferenciadas • Dividem-se regularmente
Alta	<ul style="list-style-type: none"> • Algum grau de diferenciação • Dividem-se um número limitado de vezes
Média	<ul style="list-style-type: none"> • Esperança de vida muito variável • Dividem-se ocasionalmente
Baixo	<ul style="list-style-type: none"> • Grau variável de diferenciação • Não se dividem muitas vezes
Muito Baixo	<ul style="list-style-type: none"> • Altamente diferenciadas • Não se dividem

Figura 3: Relação entre a radiosensibilidade das células e as suas características de divisão e diferenciação celulares. Adaptado de Botelho, 2012.¹¹

Tipicamente as células são mais sensíveis à radiação durante a mitose (fase M) e a síntese de RNA (fase G2), são menos sensíveis durante o período de preparação para a síntese de DNA (fase G1) e apresentam uma resistência máxima à radiação durante a síntese de DNA (fase S).¹²

2.5.2 EFEITOS DA RADIAÇÃO

Os efeitos biológicos resultantes da exposição à radiação podem ser classificados em estocásticos e determinísticos. Os efeitos determinísticos são aqueles em que a severidade do dano aumenta com o aumento das doses. No caso dos efeitos determinísticos existe uma dose limite abaixo da qual não surge qualquer efeito, denominada de dose de *threshold*. No caso dos efeitos estocásticos, não existe dose de limiar ou *threshold*, pelo que os efeitos celulares são verdadeiramente aleatórios e assume-se que existe sempre a probabilidade de ocorrerem, mesmo para pequenas doses de radiação. Por estes motivos, os efeitos estocásticos são vistos como o principal risco para a saúde.^{3,12}

Quando a radiação interage com material biológico produz efeitos que podem ser classificados em diretos ou indiretos (Figura 4). O efeito diz-se direto se o ADN fica ionizado após recepção de energia proveniente de uma partícula carregada ou de um fóton, que passa através ou próximo deste. O efeito direto é o processo dominante em interações de radiação de alto LET. Efeitos indiretos resultam de interações entre a radiação e o meio (por exemplo, citoplasma), o que leva à formação de espécies quimicamente reativas, que por sua vez interagem com o ADN. Como 70 a 85% dos sistemas vivos é composto por água, a grande maioria das lesões induzidas por radiação é realizada através de ação indireta em moléculas da água. A absorção da radiação por uma molécula de água resulta na formação de radicais livres de curta vida, nomeadamente, do ião água (H_2O^+) e do radical hidroxilo ($OH\cdot$). Os danos celulares dos radicais livres são reforçados na presença de oxigénio, o qual se combina com os radicais de hidrogénio para formar o radical livre extremamente reativo denominado de hidroperoxila. Cerca de dois terços do dano biológico provocado por radiação de baixa LET é devido ao efeito indireto da radiação.

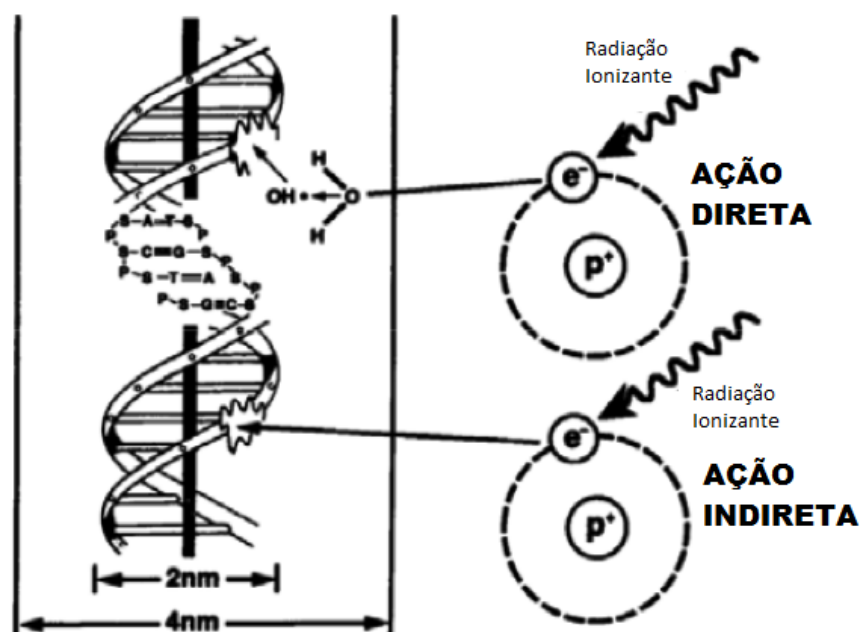


Figura 4: Efeitos diretos e efeitos indiretos da radiação na célula, Adaptado de AIAE, 2010.⁷

A evolução temporal dos efeitos resultantes da deposição da energia ionizante podem ser divididos em 3 fases: física, química e biológica, como descrito na Figura 5 e Tabela 2. A transferência de energia para o meio inicia uma sequência de eventos que dependem da magnitude da energia transferida e da estrutura electrónica da matéria do meio. As interações realizadas pela radiação ionizante no meio ocorre através de colisões sucessivas com as moléculas da vizinhança, com dissipação de energia e por vezes com emissão de eletrões ou fotões secundários. A energia inicial da partícula e/ou dos fotões já transferida para as moléculas envolventes produz radicais livres e moléculas excitadas. As alterações químicas ocorrem devido à ionização direta das moléculas ou das reações com os radicais livres, que levam à degradação de biomoléculas e a alterações de estrutura do ADN.

Quando se sobrepõe o padrão de ionização de uma partícula carregada sobre uma cadeia simples de ADN, é possível observar que ocorrem múltiplas ionizações numa curta sequência de pares de bases, sendo que os eventos físicos associados à passagem pelo ADN da partícula carregada são produzidos em cerca de 10^{-15} segundos.^{10,13} Por seu lado, os radicais livres produzidos pelo processo de ionização, são altamente reativos e completam a maioria das suas reações em cerca de 10^{-9} segundos, que lhes permite difundir em apenas três nanómetros desde o seu ponto

de origem até reagirem com uma molécula orgânica.^{10,13} Assim, de uma forma geral, quando a radiação ionizante interage com o material biológico, principalmente o ADN, provoca alterações na sua estrutura num curto espaço de tempo, entre 10^{-3} e 10^{-5} segundos, estimulando a quebras de ligações químicas do ADN. Contudo, os efeitos biológicos de tal lesão surgem tardiamente, após um período de latência que pode demorar desde algumas horas até vários anos. Como consequência dos danos no ADN a célula pode sofrer uma mutação, entrar em apoptose ou tornar-se numa célula carcinogénica.¹³ Um dos fenómenos biológicos observado após a irradiação de células é o efeito *bystander*, isto é, numa população de células em que apenas algumas são atingidas pela radiação, as células diretamente irradiadas enviam sinais às células vizinhas para que estas respondam ao stresse oxidativo. A resposta pode ser, por exemplo, através do aumento da ocorrência de mutações e instabilidade genética, indução da apoptose e sequestro das células na fase G0. Caso a morte celular seja o destino final da célula irradiada, esta pode ocorrer dentro de algumas horas, isto é, efeitos precoces da radiação. Contudo, se o dano for oncogénico, a sua expressão pode ser adiada durante anos, isto é, efeito tardio da radiação.

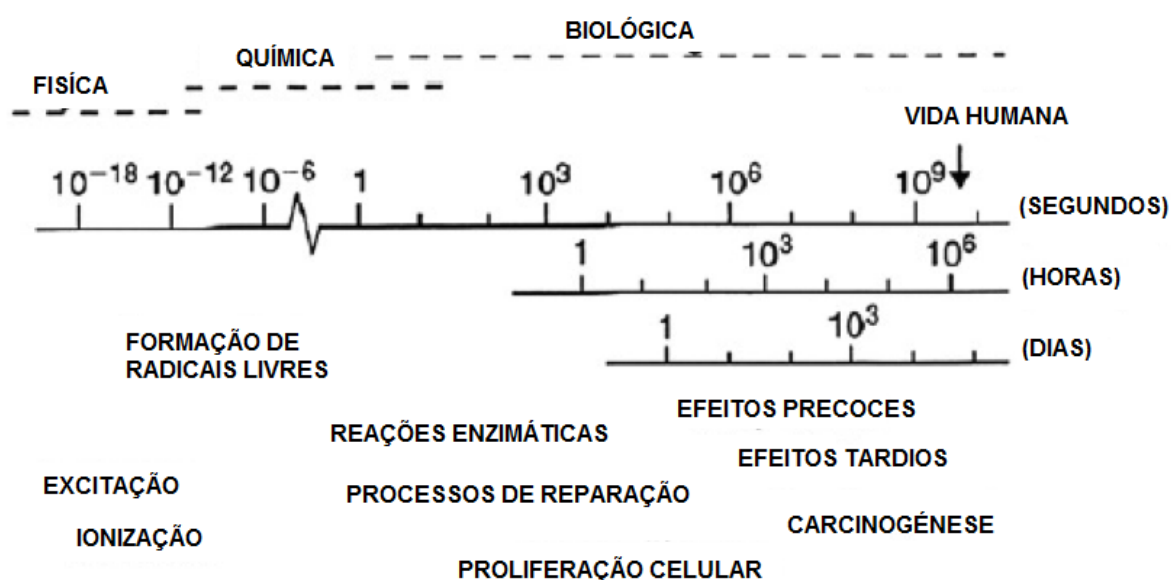


Figura 5: Evolução temporal dos efeitos resultantes da deposição da radiação ionizante nas células. Adaptado de Klein 2009.¹⁴

Tabela 2. Caracterização temporal dos principais efeitos da radiação no tecido alvo.¹³

Fase	Tempo	Evento
Fase Física	10^{-18} s	Partícula atravessa a molécula
	10^{-15} s	Ionização
	10^{-14} s	Excitação (vibração e dissociação molecular)
Fase Química	10^{-12} s	Dissociação dos radicais livres
	10^{-10} s	Radicais livres reagem com o soluto
	10^{-8} s	Formação de produtos moleculares
	10^{-5} s	Conclusão das reações químicas
Fase Bioquímica	1s - 1h	Reações enzimáticas e processos de reparação
Fase Biológica	1h - 10 anos	Morte celular ou carcinogênese

2.5.3 TIPOS DE DANOS CELULARES RADIOINDUZIDOS

As células expressam os danos radioinduzidos aquando da sua divisão e multiplicação. Lesões que provocam aberrações cromossómicas e mutações genéticas nas células podem levar à morte celular, inibição da divisão celular ou a transformações malignas. Estas alterações celulares podem ter como consequências finais a alteração da função tecidular, morte tecidular ou indução de cancro.

Suntharalingam e colegas em 2002 classificaram os danos provocados pela radiação em células de mamíferos em três grandes grupos:¹⁵

- **Danos letais:** os quais são irreversíveis, conduzindo à morte da célula;
- **Danos subletais:** podem ser reparados em algumas horas exceto se outros danos subletais forem adicionados durante a reparação celular, o que conduzirá ao aparecimento de um dano letal;
- **Danos potencialmente letais:** podem ser processados pelos mecanismos de reparação quando as células são retidas no estágio G_0 .

Como consequência dos danos provocados pela radiação, a célula experienciar nove possíveis destinos finais:¹⁵

- **Ausência de efeito;**
- **Atraso na divisão:** célula fica retida no estágio G₀;
- **Apoptose:** a célula morre antes ou após a divisão por fragmentação em pequenos corpos, que são posteriormente absorvidos;
- **Falha reprodutiva:** a célula morre na tentativa de executar mitose;
- **Instabilidade genómica:** caracteriza-se por um atraso da falha reprodutiva como resultado da introdução de instabilidade genómica;
- **Mutação:** a célula sobrevive, mas está mutada;
- **Transformações:** a célula sobrevive, mas a mutação leva a alterações de fenótipo e possibilidade de carcinogénese;
- **Efeito *bystander*:** a célula irradiada envia sinais às células vizinhas não irradiadas, induzindo danos genéticos nas mesmas;
- **Resposta adaptativa:** a célula irradiada é estimulada para reagir e tornar-se mais resistentes à radiação.

A interação de radiação ionizante com o material biológico provoca uma cascata de eventos nefastos para a estrutura e função do material em causa. Quando a radiação interage diretamente com enzimas, alterações da estrutura terciária ou disrupção das ligações químicas das enzimas podem ocorrer, levando à inibição da atividade enzimática ou a alterações do metabolismo celular. Por sua vez, se a radiação interage diretamente com as membranas celulares pode ocorrer um aumento da permeabilidade aos iões, resultando em potenciais alterações da composição intracelular e extracelular da célula.³ Por outro lado, quando existe interação entre radiação e o ADN, um dos seguintes efeitos biológicos na estrutura do ADN podem ocorrer: (1) alteração das ligações entre as bases, devido a substituição de bases; adição de novas bases ou remoção de bases existentes; e substituição cruzada de bases; (2) quebras simples da cadeia de ADN (SSB, *Single Strand Break*); ou (3) quebras duplas da cadeia de ADN (DSB, *Double Strand Break*). Estes danos do ADN podem conduzir a alterações na função do mesmo, levando a uma das seguintes situações: inibição temporária ou permanente da síntese de ADN, síntese de ADN incorreto, inibição ou prevenção da mitose ou síntese de proteínas incorretas.

2.5.4 MECANISMOS DE REPARAÇÃO CELULAR

Dependendo da energia depositada pela radiação ionizante na célula irradiada podem ocorrer quebras de apenas uma cadeia de ADN ou quebras nas duas cadeias de ADN (mencionadas anteriormente). Em termos biológicos as SSBs são tipicamente de fácil reparação, não apresentando assim grandes consequências celulares, a não ser em casos de reparação incorreta os quais podem conduzir ao aparecimento de uma mutação. Também as DSBs separadas por vários pares de bases são frequentemente facilmente reparados pelos mecanismos celulares. Porém as DSBs complexas, separadas por poucos pares de bases são uma das lesões mais tóxicas e mutagénicas nas células humanas, pelo que uma única DSB tem potencial para remover mais de 100 milhões de pares de base de informação genética.¹³

O número de lesões no ADN geradas pela radiação é elevado, mas o número de células que morrem devido às lesões do ADN é substancialmente mais reduzido. Tipicamente, o número de lesões induzidas no ADN por uma radiação de 1-2 Gy é aproximadamente de 1000 SSBs e 40 DSBs. Dados experimentais demonstram que as DSBs induzidas por radiações de baixo LET são tipicamente mais facilmente reparadas que as DSBs provocadas por radiações de alto LET, pelo que a obtenção de conhecimento relativo às interações e trajetos da radiação (*track structure*) na matéria tem vindo a ser utilizado para explicar as variações e diferentes distribuições das lesões no ADN.¹⁰

Existem múltiplos mecanismos enzimáticos de reparação do ADN nas células que atuam em diferentes tipos de lesões e que são capazes, em muitos casos, de conduzir a célula de volta ao seu estado inicial. Para as lesões DSBs, os principais mecanismos de reparação são a recombinação homóloga (*Homologous Recombination*) e a recombinação não-homóloga (*Non-Homologous End Joining, NHEJ*).¹⁶ A recombinação homóloga requer que parte do ADN não esteja danificado para servir como molde para síntese de novo ADN, sendo um mecanismo raro, sem erros, e que acontece essencialmente após a replicação, na fase final do estágio S e G2 do ciclo celular. Este tipo de reparação inicia-se com a ligação de um complexo proteico aos locais das lesões. De seguida ocorre a síntese dos nucleótidos em falta, de forma a criar um complexo cruzado entre as cadeias de ADN lesadas e normais, designado de junção de *Holliday*. Por último ocorre a quebra da junção *Holliday*, que

é o passo final no processo de reparação por recombinação homóloga. Por sua vez, a recombinação não-homóloga provoca lesões pré-mutagênicas, as quais podem ser letais no caso de aberrações em anel, dicêntricas ou pontes de anáfase; ou não-letais se forem pequenas deleções ou translocações simétricas. Este mecanismo opera na ponta do fragmento de ADN, após a identificação por parte da proteína Ku70/Ku80 do local da lesão. De seguida, a proteína de reparação liga-se à subunidade ADN-proteína quinase (DNA-PK, DNA-protein-kinase), o qual promove uma reconexão dos fragmentos de ADN. Este mecanismo ocorre essencialmente na fase final do estágio G1 e fase S do ciclo celular.¹⁶

Existem mecanismos de reparação menos complexos que os descritos acima e que são utilizados principalmente nas quebras simples, como é o caso da reparação por excisão de bases (BER, *Base Excision Repair*), que permite corrigir problemas em bases individuais através da produção de um local AP (local apurínico ou apirimidínico); e reparação por excisão de nucleótidos (NER, *Nucleotide Excision Repair*), que corrige dímeros de timidina através da remoção de oligonucleótidos e reparação de erros de emparelhamento (MMR, *Mismatch Repair*).⁷ O mecanismo BER é um processo celular que repara lesões no ADN fora do ciclo celular (G₀). É responsável primeiramente pela remoção de lesões pequenas e simples nas bases do genoma, que de outra forma poderiam causar mutações por reparações incorretas ou quebras na duplicação do ADN. O processo BER é iniciado pela glicosilase (*DNA glycosylases*), que reconhece e remove as bases lesadas ou alteradas da cadeia de ADN, formando locais AP. Estes locais são então clivados pela endonuclease AP (*AP endonuclease*). Subsequentemente, a quebra simples resultante pode então ser processada pelo denominado *Short-patch* BER (SP-BER), no qual um único nucleótido é substituído; ou pelo *Long-patch* BER (LP-BER), no qual são sintetizados 2-10 novos nucleótidos. Fatores como o tipo de lesão, a fase do ciclo celular e o grau de diferenciação da célula influencia a decisão celular na escolha entre reparação por SP-BER ou LP-BER. Por outro lado, o processo NER é um mecanismo de excisão importante que remove mutações resultantes da radiação, tais como dímeros de timidina. O reconhecimento da lesão leva à remoção de um pequeno segmento da cadeia de ADN que a contém. A cadeia de ADN sem lesão é utilizada pela ADN-polimerase como molde para a síntese da sequência

complementar em falta. Por fim, a ADN-ligase produz a ligação que completa o processo e origina a dupla cadeia de ADN reparada. A Figura 6, apresentada abaixo, sintetiza de forma simples os processos BER e NER que ocorrem em células dos mamíferos.¹⁷

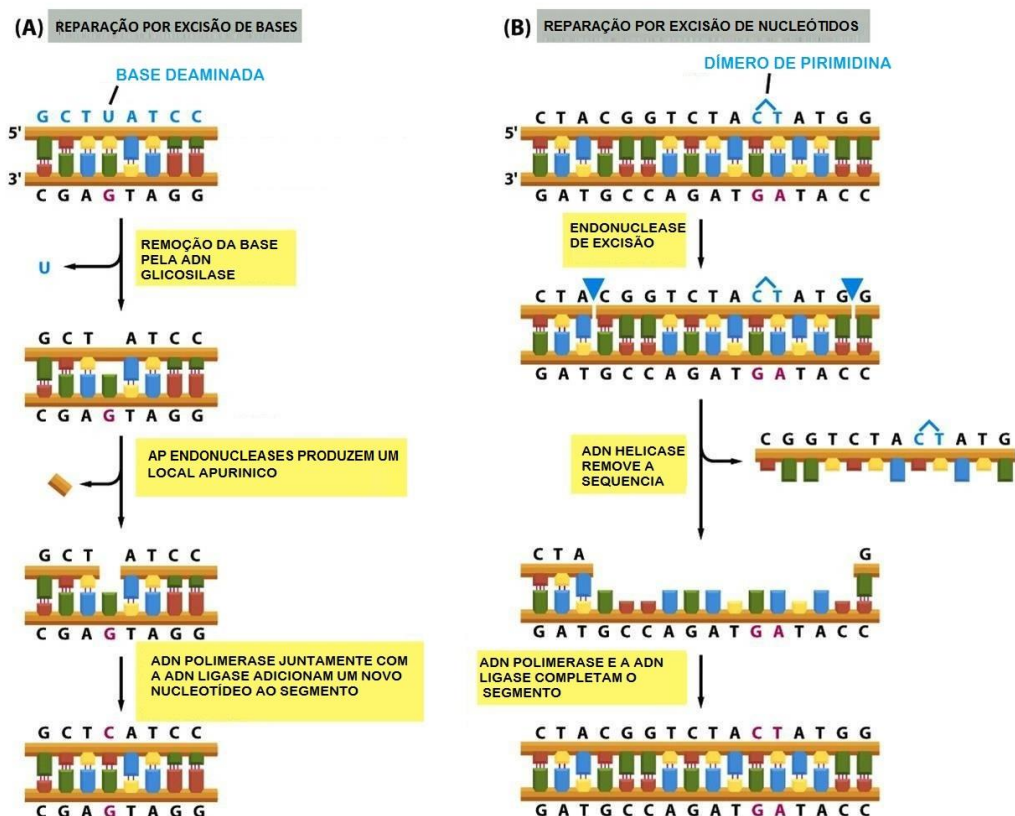


Figura 6: Esquema dos mecanismos de reparação do ADN: (A) BER e (B) NER. Adaptado de Blakely, 1989.¹⁷

2.5.5 CURVAS DE SOBREVIDA E MODELOS DE RADIOBIOLOGIA CELULAR

O procedimento padrão utilizado para medir a radiosensibilidade de uma população celular é a retenção da sua integridade reprodutiva. Este é referido como a sobrevivência celular e percentagem de sobrevivência após irradiação, assumindo que existe uma relação clara entre a morte celular programada, o crescimento celular e a sobrevivência celular para um vasto intervalo de doses.

O tipo de radiação influencia a forma da curva de sobrevivência celular, sendo que radiações densamente ionizantes apresentam curvas de sobrevivência quase exponenciais face à dose absorvida, enquanto radiações pouco ionizantes

apresentam uma pequena diminuição inicial, seguida de uma região denominada em ombro e de um decréscimo constante para altas doses (Figura 7).³ As curvas de sobrevida são melhor expressas em gráficos semi-logarítmicos de sobrevivência celular *versus* dose de radiação.

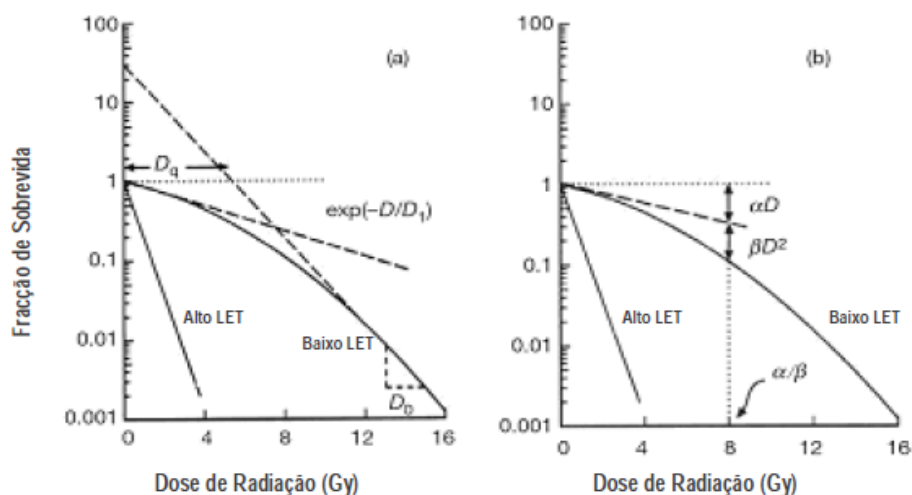


Figura 7: Curvas de sobrevida celular típica para radiação de alta LET e baixa LET: (a) primeiro modelo e (b) modelo atual.³ (α representa a inclinação inicial da curva e β a componente quadrática de morte celular para descrever o declive da sobrevida (S) com o aumento da dose (D)).

A Tabela 3 apresenta um resumo da quantificação dos efeitos celulares determinados após irradiação com 1 Gy de radiação de diferente qualidade (baixo e alto LET).

Estudos têm demonstrado que a taxa de sobrevivência celular é superior quando uma dose de radiação é administrada de forma fracionada num período superior a 2 horas, comparado com uma única dose de radiação. Esta variação na resposta celular à radiação pode ser atribuída aos diferentes tempos de reparações requeridos para o processamento das lesões subletais. Em geral, o período de reparação de metade das lesões subletais em células em cultura varia entre 0.5 a 1 hora, podendo este período de reparação ser maior em tecidos. Contudo, a reparação completa de lesões subletais em células em cultura pode demorar entre 6 a 8 horas (podendo também ser mais moroso em tecidos).⁷ Deste modo, pode-se concluir que existe uma velocidade máxima de reparação do dano, que é observada quando a lesão atinge níveis de saturação, análogo à cinética enzimática. Assim, a

reparação de danos celulares é menos bem-sucedida para irradiações de altas taxas de doses, apresentado maior sucesso para baixas taxas de doses. Para além disso, o sucesso crescente da sobrevivência celular a baixas doses ou com doses muito espaçadas no tempo é consistente com a importância dada ao tempo de reparação das lesões subletais.⁷

Tabela 3. Quantificação de diferentes eventos e efeitos biológicos após a irradiação com 1 Gy de diferente qualidade numa célula de mamíferos.¹³

Evento	Baixo LET	Alto LET
Trajétórias no núcleo	1000	2
Ionizações no núcleo	100000	100000
Ionizações no ADN	1500	1500
Bases lesadas	10 ⁴	10 ⁴
SSBs	850	450
<i>Crosslink</i> de proteínas	150	-
Aberrações cromossómicas	0-3	2-5
Aberrações completas	10%	45%
Instabilidade cromossómica	<10%	40%
Inativação celular	30%	85%

Sabe-se que o controlo tumoral depende da destruição das células germinativas tumorais, da percentagem destas células no tumor e do tamanho do tumor. Para um modelo simples, que assume que a resposta tumoral à radiação depende da resposta individual das células, a dose de radiação necessária para atingir o controlo tumoral depende unicamente da radiosensibilidade das células germinativas tumorais e do seu número. O mesmo princípio aplicado às curvas de sobrevida para as células do tumor possibilita estimar o valor de sobrevida celular após uma determinada dose de radiação, embora, devido à natureza aleatória das lesões provocadas pela radiação e à existência do efeito *bystander*, haverá uma flutuação de incerteza em volta desse valor.¹⁰ Deste modo, é possível desenvolver

um modelo teórico do controlo tumoral em função das curvas de sobrevida, expresso por uma relação sigmoidal. A posição da curva relativamente à dose vai depender do número de células germinativas e do declive da radiosensibilidade dessas mesmas células. É expectável que tumores de maiores dimensões necessitem de ser tratados com doses superiores que os de menores dimensões, sendo este efeito exacerbado por diferentes condições do microambiente que influenciam a radiosensibilidade celular, tais como a hipóxia.

As primeiras aplicações de modelos de radiobiologia foram desenvolvidas em 1967 por Butts e Katz, que utilizaram a distribuição espacial de energia para mapear a resposta biológica de radiações de baixa LET.¹⁸ Estes modelos assentavam na extrapolação dos efeitos biológicos para altas taxas de dose utilizando dados de dose-resposta recolhidos. Desde então, os modelos de radiobiologia celular têm contribuído para a interpretação das relações dose-efeito, para o estudo das diferenças entre radiações de alta e baixa LET, para a quantificação das lesões no ADN e para a avaliação e classificação do espectro de lesões.¹⁹

O modelo mais utilizado na atualidade é o modelo linear-quadrático (LQ)²⁰, o qual utiliza um polinómio de segunda ordem, em que as constantes α representa a inclinação inicial da curva e β a componente quadrática de morte celular para descrever o declive da sobrevida (S) com o aumento da dose (D):

$$S = e^{-(\alpha D + \beta D^2)}$$

A razão α/β fornece a dose para a qual os componentes quadráticos e lineares da morte celular são iguais.^{3,21}

Outros modelos com importância na investigação em radiobiologia incluem o modelo cinético designado modelo linear reparação-não reparação (RMR, *linear repair-misrepair*)^{18,22} e o modelo leta-potencialmente letal (LPL, *lethal-potentially lethal*)²⁰, que utilizam ambos um sistema de reparação de lesões baseado em equações diferenciais de segunda ordem e um sistema de equações de primeira ordem para a junção de lesões. O modelo cinético de duas-lesões (TLK, *two-lesion kinetic*)²⁰ foi outro dos modelos radiobiológicos recentemente proposto e que postula uma associação direta entre os processos bioquímicos das lesões no ADN e a

morte celular. No modelo TLK, as DSBs são subdivididas em DSBs simples ou complexas.

Como demonstrado acima, a resposta biológica das células após irradiação pode levar horas ou mesmo anos a ser observada. Por outro lado, o uso de modelos radiobiológicos possibilita o estudo e quantificação do espectro dos danos moleculares produzido por radiação de diferentes qualidades no genoma humano num curto espaço de tempo. Vários modelos radiobiológicos têm sido implementados em simuladores computacionais desenvolvidos com base no código Monte Carlo.¹⁹ O uso de modelos radiobiológicos e de simuladores computacionais, para além de possibilitarem o estudo dos danos biológicos radioinduzidos num curto espaço de tempo, permitem também a:

- Interpretação e modelação da relação dose-efeito;
- Estudo das diferenças entre radiações de baixo e alto LET;
- Investigação dos efeitos relacionados com baixas doses;
- Estudo do espectro de lesões no ADN;
- Avaliação do conceito da lesão simples versus aglomerados de lesões;
- Quantificação do número de lesões no ADN;
- Desenvolvimento de modelos de aplicação.

2.6 IRRADIAÇÃO CELULAR E APOPTOSE

A presente Dissertação versa sobre o estudo dos efeitos da irradiação do ADN celular e de diferentes tipos de células com radioisótopos e, conforme referido anteriormente, o processo apoptótico pode ser iniciado por sinais intrínsecos que induzem stresse celular devido à exposição à radiação. De facto, em 2001, Wang *et al.* concluíram que os padrões de resposta celular adotados pelas células quando sujeitas a irradiação com ⁸⁹Sr, um dos isótopos mais utilizados clinicamente para terapia paliativa de metástases ósseas, incluíam morte celular por apoptose ou necrose dependendo da dose e concentração radioativa utilizadas. Estes autores verificaram que, quando a dose cumulativa absorvida pela célula era menor do que 2 Gy, com baixa concentração radioativa (2960 kBq/mL), apesar de existir inibição da proliferação celular e um retardamento do ciclo celular, não era evidente nenhum

processo de morte celular, independentemente do tempo de irradiação. Por sua vez, quando a cultura celular absorvia uma dose cumulativa de 6.76 Gy, com uma concentração radioativa moderada (3330 kBq/mL), a percentagem de morte celular por apoptose aumentava consideravelmente (pico de percentagem de morte celular por apoptose de 46.28%) e observava-se uma correlação entre o tempo de irradiação e o aparecimento de apoptose. Finalmente, quando a dose absorvida pela célula ultrapassava os 9 Gy, correspondente a uma concentração radioativa elevada (13320 kBq/mL), verificou-se um aumento da morte celular por necrose, havendo apenas uma pequena quantidade de células a morrer por apoptose.⁸ Os autores concluíram que os resultados observados se deviam ao facto de valores de dose cumulativa absorvida de 9 Gy serem suficientes para impedir a transcrição genética e destruir a integridade da membrana celular, resultando por conseguinte num processo de morte celular por necrose, pois o processo apoptótico é um processo ativo que necessita da expressão genética de certas proteínas. Este estudo revelou que o processo apoptótico está dependente do tempo total de irradiação e da dose cumulativa absorvida, entre outros fatores.⁸ Assim, caso a célula absorva a mesma dose porém durante períodos diferentes de tempo, o processo de morte celular induzido será diferente. Isto porque as lesões no ADN provocadas por doses elevadas absorvidas num período de tempo muito reduzido são mais severas do que por baixas doses de radiação durante um maior período de tempo.

2.7 SUMÁRIO

Deste capítulo conclui-se que a célula começa a sua vida quando se origina a partir da divisão da célula-mãe e termina quando ela própria se divide em duas células-filha. O ciclo celular, bem como toda a cinética a este associado, desempenha um papel fundamental na resposta celular aos danos induzidos, nomeadamente pela radiação ionizante. Aquando de um dano, os mecanismos de controlo do ciclo celular podem iniciar o processo de reparação, podem ativar o processo de morte celular ou podem sinalizar a retenção das células danificadas num estágio quiescente designado de G_0 . A apoptose é o processo de morte celular que menos danos causa às células vizinhas, sendo um processo controlado de morte celular, desejável em

cenários de terapias com recurso à radiação. Também neste capítulo se observa que a radiação provoca efeitos no ADN e nas células e que estes dependem em muito da qualidade da radiação e dos mecanismos de reparação que atuam nas lesões. Sendo que estudos em culturas de células têm demonstrado uma relação entre a dose de radiação absorvida pelas células e a escolha do método de indução de morte celular (apoptose ou necrose). O esquema apresentado na Figura 8 sumaria os processos celulares tipicamente observados após indução de danos às células.

Vários modelos têm vindo a ser desenvolvidos na área de radiobiologia para, de uma forma mais simples, descrever os processos complexos da interação da radiação com a matéria. Os modelos radiobiológicos são importantes para o estudo e modelização da resposta do material biológico e das células à radiação ionizante.

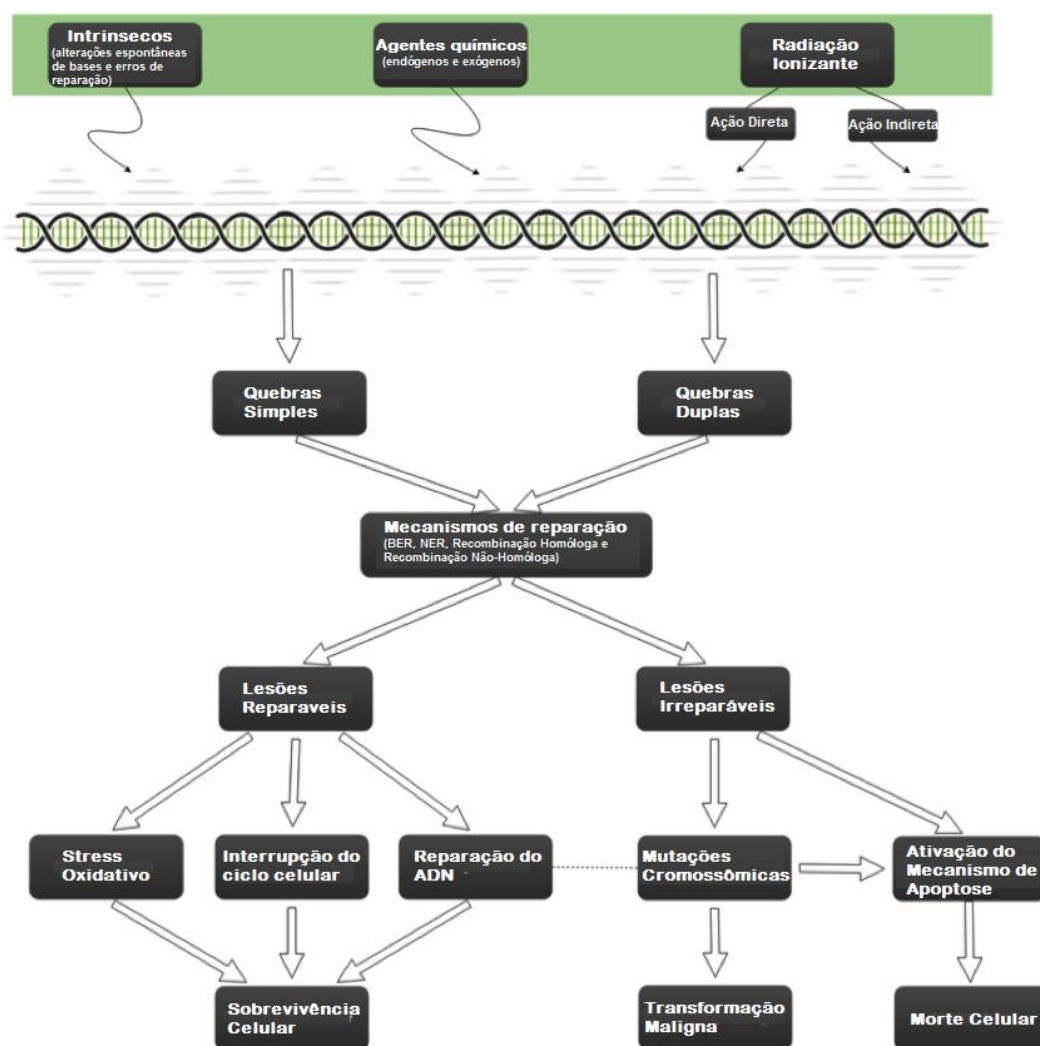


Figura 8: Sumário dos principais processos de resposta celular a diferentes tipos de danos celulares induzidos.

Capítulo 3

METÁSTASES ÓSSEAS

3.1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de metástases é o resultado final de várias etapas interdependentes, que fazem parte de um processo que inclui uma complexa interação entre as células tumorais e o local hospedeiro, neste caso o tecido ósseo. Dado que o osso é um repositório de fatores de crescimento, este tecido favorece o desenvolvimento das células tumorais, o que conseqüentemente leva à alteração da homeostasia do osso, isto é, o equilíbrio entre a reabsorção óssea e produção do novo tecido que é característico do tecido ósseo saudável. A interação das células tumorais com as células do tecido hospedeiro podem ocorrer essencialmente de duas formas: (1) pela promoção da produção de novo tecido através da ativação de osteoblastos (originando lesões ósseas designadas de osteoblásticas); ou (2) pela promoção do aumento da taxa de reabsorção óssea através dos osteoclastos (originando lesões designadas por osteolíticas).

Neste capítulo descreve-se os diferentes passos associados ao processo metastático, com particular ênfase nas metástase ósseas originárias do cancro da próstata; as principais características das células ósseas normais e metastáticas; bem como os diferentes métodos de deteção e tratamento das metástases ósseas.

3.2 PROCESSO METÁSTICO

O termo metástase (do grego *metastasis*, alteração da localização, transferência) refere-se ao crescimento de tumores secundários em locais distantes da neoplasia primária. Um tumor metastático ou metástase tem, frequentemente, o mesmo tipo de células do tumor primário, partilhando assim com o tumor original algumas características moleculares, tais como a expressão de certas proteínas ou a presença de algumas alterações cromossómicas específicas.

A distribuição das metástases por tecidos e órgãos depende do tipo e localização do tumor primário, sendo que 50% a 60% dos locais secundários de metastização são definidos pelas vias anatómicas de proliferação percorridas pelas células disseminadas.

Stephen Paget propôs a teoria do “solo e da semente” (*Seed and Soil*) para melhor explicar o processo metastático, na qual sugeria que as células metastáticas,

isto é, as “sementes”, estão dispersas por todo o corpo, contudo estas “sementes” só poderão sobreviver e crescer quando chegam a um tecido ou órgão com características ótimas para o seu desenvolvimento.^{23–25} De uma forma simplista, Paget comparou o processo de metastização óssea com o processo de plantação de sementes: *“When a plant goes to seed, its seed are carried in all directions: but they only live and grow if they fall on congenial soil”*.²⁴ Quarenta anos depois, em 1928 James Ewing apresentou uma nova visão, propondo que as células metastáticas desenvolvem-se num determinado local porque são arrastadas pela corrente sanguínea para esse mesmo local.²⁶ Mais recentemente, em 2002, Isaiah Fidler refinou a teoria *Seed and Soil* utilizando três princípios básicos.²⁶ O primeiro princípio definia o tecido tumoral como sendo composto por uma população celular heterogénea com diferentes propriedades de angiogénese, de invasão tecidual e de metastização. O segundo princípio postulava que o processo metastático é seletivo para células que sobrevivam a uma longa jornada na corrente sanguínea até ao local de destino. Por ultimo, o terceiro princípio assumia que o sucesso das células metastáticas estava dependente da capacidade destas interagirem com o novo ambiente.

O aparecimento e desenvolvimento de metástases é o resultado final de várias etapas interdependentes, que fazem parte de um processo multifacetado que inclui uma complexa interação entre o tumor e o local hospedeiro. Os principais passos associados ao processo metastático incluem:^{25,27}

- **Invasão local:** as células cancerosas invadem tecido vizinho normal;
- **Invasão dos vasos:** as células cancerosas invadem e movem-se através das paredes dos vasos linfáticos e sanguíneos adjacentes;
- **Circulação:** as células cancerosas movem-se pelo sistema linfático e corrente sanguínea para outros locais do corpo;
- **Extravasão:** as células cancerosas param de se mover em pequenos capilares, onde invadem a parede dos capilares e migram pelo tecido envolvente;
- **Proliferação:** as células cancerosas multiplicam-se no novo local e formam pequenos tumores, designados de micrometástases;

- **Angiogenese:** os pequenos tumores estimulam o desenvolvimento de vasos sanguíneos, fundamentais para a obtenção de oxigênio e nutrientes, permitindo assim o desenvolvimento contínuo do tumor metastático. Tipicamente, o crescimento dos tumores para além de alguns milímetros de diâmetro não ocorre sem neovascularização. Várias alterações genéticas associadas à progressão maligna (mutação do gene RAS, perda do p53, entre outras) induzem um fenótipo angiogénico (desenvolvimento de vasos sanguíneos), através da indução de fatores de crescimento, tais como o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF-A, *vascular endothelial growth factor*) e o fator de crescimento básico dos fibroblastos (bFGF, *basic fibroblast growth factor*). O bFGF é tipicamente sobre-expresso nos cancros, especialmente aquando dos processos de invasão tecidular, no qual as células tumorais interagem com as células hospedeiras.

Vários fatores contribuem para a tendência de metástases no tecido ósseo. Por exemplo, a circulação sanguínea é elevada nas zonas da medula óssea e as células tumorais produzem moléculas que aderem às células do estroma da medula e da matriz óssea. Estas interações adesivas causam um aumento da produção de fatores de crescimento e absorção por parte das células ósseas que encorajam o crescimento tumoral. Para além disso, o osso também apresenta uma reserva considerável de vários fatores de crescimento celular, tais como o fator de transformação do crescimento beta (TGF- β), as proteínas morfogenéticas do osso (BMPs), o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), os fatores de crescimento semelhantes à insulina I e II (IGF-I, IGF-II) e o cálcio.²⁸

A disseminação tumoral do local de origem para um novo local não contíguo depende de diversas interações entre as células tumorais e o ambiente hospedeiro, sendo que, na maioria dos casos, a matriz extracelular (EMC) serve como modelador. Componentes da ECM e correspondentes recetores sofrem alterações durante o desenvolvimento normal e anormal das células. Consequentemente, a degradação localizada dos componentes da ECM é um pré-requisito para as células tumorais migrarem. Também as interações célula-célula e célula-ECM são alteradas durante a

transformação maligna e progressão neoplásica, e representam um potencial mecanismo inerente à disseminação tumoral para locais distantes do de origem.²⁹ Apesar da presença significativa de metástases em diversos tipos de câncros, o processo metastático em si é ineficiente, pois apenas uma proporção muito pequena das células tumorais (menos de 0.1%) que entra em circulação produz eventualmente metástases.^{30,31}

3.3 PROCESSO METÁSTICO NO CONTEXTO DO CÂNCRO DA PRÓSTATA

O câncer da próstata é um dos câncros mais comumente diagnosticado nos indivíduos de sexo masculino, sendo que mais de 70% dos casos de câncer da próstata são diagnosticados em homens com mais de 65 anos.²⁹ O câncer da próstata é a segunda maior causa de mortes relacionadas com câncros em homens a seguir ao câncer do pulmão. Este câncer apresenta uma taxa de metastização de aproximadamente 70%, sendo o tecido ósseo o local mais afetado (aproximadamente 90%).^{29,32} Todos os anos, é estimado que mais de 100.000 doentes desenvolvam metástases ósseas, dos quais 65-75% apresentam câncros primários da próstata ou mama.³³

Como referido anteriormente, um passo importante no processo metastático envolve o aparecimento de alterações na adesão celular às células adjacentes e à ECM. No caso das células da próstata, a sua passagem de um fenótipo normal para um fenótipo neoplásico ou metastático observa-se devido à perda de receptores da integrina $\alpha 6 \beta 4$, sendo esta perda tão acentuada quanto maior for a malignidade da célula.²⁶ A disseminação das células tumorais da próstata ocorre maioritariamente via corrente sanguínea ou linfática. Após a sua entrada na microvasculatura estas têm que evitar o ataque por parte do sistema imunitário. Para sobreviver, durante este processo de transporte na corrente sanguínea ou linfática, as células tumorais submetem-se a um processo de “de-adesão” via alterações internas da célula ou de formação de aglomerados (por exemplo, de células tumorais e/ou de plaquetas) para recriar a sinalização celular aderente, o que lhes confere alguma resistência. Quando estas células individuais ou aglomerados atingem o tecido alvo, extravasam-

se da microvasculatura e migram para dentro do tecido. Caso o tecido alvo garanta a sinalização extracelular em falta, as células proliferam para formar focos metastáticos. O conjunto de sinalização necessária à proliferação dos focos metastáticos depende das alterações intrínsecas das células tumorais, as quais são responsáveis pela sua sobrevivência e crescimento no local secundário. No caso do cancro da próstata, existe uma correlação entre a agressividade tumoral e a independência de androgénios.³⁴ Na Figura 9 apresenta-se um esquema do processo metastático no tecido ósseo de tumores primários da próstata.

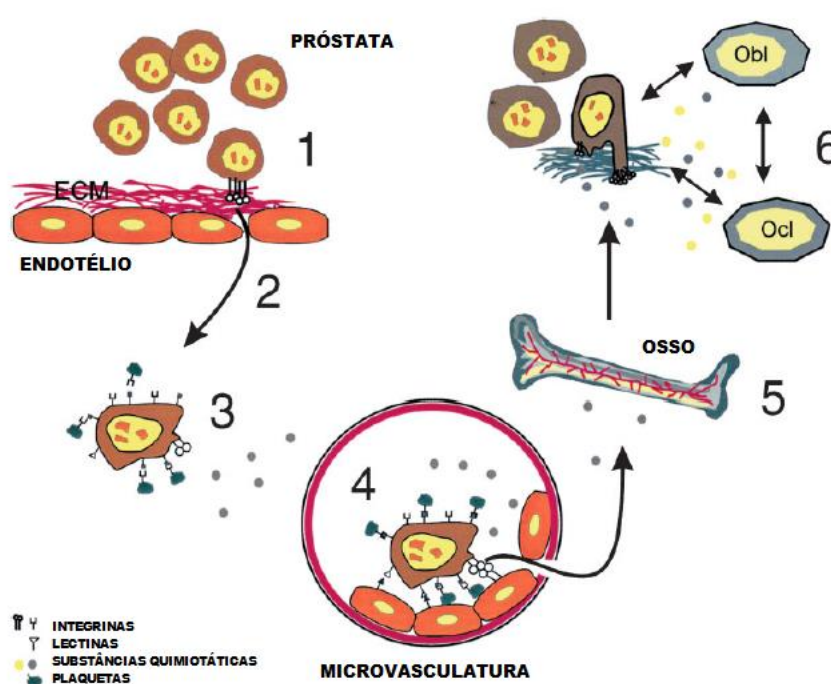


Figura 9: Fases principais do processo metastático no tecido ósseo de tumores primários da próstata. Legenda:(1) crescimento do tumor no tecido original (tecido da próstata); (2) evasão do tecido original; (3) sobrevivência das células neoplásicas na circulação sanguínea e linfática; (4) extravasão das células neoplásicas da microvasculatura para o tecido ósseo; (5) proliferação da metástase no osso; (6) interação das células neoplásicas com as células nativas do osso (Ocl, osteoclastos; Obl, osteoblastos). Adaptado de Tantivejkul, 2004.

3.4 DETEÇÃO E TRATAMENTO DE METÁSTASES ÓSSEAS

A morbilidade e mortalidade associadas à maioria dos cancros ocorre devido à progressão do tumor desde sua localização primária até locais remotos. Os tumores primários são, geralmente, acessíveis e podem ser removidos por cirurgia ou eliminados por via de tratamentos com recurso à radiação. Contudo, quando o

tumor se estende para além das suas fronteiras na localização primária, estas abordagens terapêuticas são ineficazes. Pelo que, nesses casos, terapêuticas globais ou amplamente aplicadas serão necessárias. As metástases ósseas são um exemplo da disseminação de tumores primários para um local remoto. Estas são bastantes frequentes, sendo que cerca de 65% dos doentes com cancros na próstata, pulmões e mama vão, em alguma fase da sua doença, desenvolver metástases ósseas. A esperança média de vida após o aparecimento de metástases ósseas varia entre 2 a 4 anos para os cancros da próstata podendo chegar a um máximo de 10 anos.³⁵

Abaixo apresentam-se os principais sinais e sintomas associados à ocorrência de metástases ósseas, bem como os principais meios de diagnóstico e tratamento das mesmas.

3.4.1 SINAIS E SINTOMAS

Os principais sintomas associados às metástases ósseas são:

- **Dor óssea**

Dado que os tumores malignos mais comuns, tais como o cancro da mama, próstata e pulmões frequentemente metastizam para o osso, não é surpreendente que cerca de 60 a 80% dos doentes com cancros avançados sofram de dor óssea. Assim, a dor óssea é o sintoma mais comum, estando presente tanto em lesões osteolíticas como em lesões osteoblásticas. A dor óssea proveniente de metástases é de intensidade variável e intermitente nas fases iniciais da patologia, progredindo para uma dor contínua de baixa intensidade com episódios de dores severas, atingindo em fases finais da patologia um estado de dor crónica. O mecanismo de dor está usualmente associado à perda óssea em lesões líticas, todavia, lesões blásticas podem igualmente enfraquecer o osso através da perda da integridade estrutural, o que também causa dor.

- **Fraturas patológicas**

Em alguns casos, as fraturas patológicas podem ser o primeiro sinal da presença de metástases ósseas. O mecanismo inerente ao aparecimento de fraturas ósseas está relacionado com a destruição do osso cortical, que reduz a capacidade do tecido ósseo de suportar pesos e tensões, resultando em microfraturas do osso

trabecular com subsequentemente perda da integridade do osso. Estas fraturas ósseas podem ocorrer de forma espontânea ou após uma lesão trivial.

- **Hipercalemia**

A hipercalemia é definida como o aumento da concentração de cálcio no sangue. Esta ocorre frequentemente em doentes com metástases ósseas derivadas de mielomas, cancro da mama, pulmão ou próstata. O aumento da concentração de cálcio está relacionado com o aparecimento de dores ósseas, bem como de vômitos, náuseas, desidratação, fraqueza e distúrbios mentais. Na maioria dos casos, o mecanismo adjacente à hipercalemia está relacionado com um ou mais fatores sistémicos produzidos pelas células tumorais, como por exemplo a proteína relacionada com a hormona tiroideia (PTHrP), que estimulam a reabsorção óssea por via dos osteoclastos e aumentam a reabsorção tubular renal.

- **Instabilidade e compressão da coluna vertebral**

A coluna vertebral é um dos locais mais comuns para as metástases ósseas. A ocorrência de metástases ósseas nessa zona pode conduzir a instabilidade e distúrbios neurológicos, dado que a espinal medula processa a condução de impulsos da periferia para o sistema nervoso central e vice-versa. Por outro lado, a compressão da espinal medula pode levar a perda de capacidades motoras, o que pode ter um impacto significativo na qualidade de vida do doente.

3.4.2 MÉTODOS DE DETEÇÃO

Existem muitas técnicas de imagem que possibilitam a deteção de metástases ósseas, das quais se destacam as radiografias, as cintigrafias ósseas e as técnicas tomográficas de emissão ou transmissão. Os métodos mais comumente utilizados para deteção de metástases ósseas são a cintigrafia óssea e a radiografia.

- **Exames de raio-X**

Exames de raio-X podem mostrar a invasão do cancro do tecido ósseo. Geralmente este é um dos primeiros exames a ser realizado quando um doente com cancro se queixa de dores ósseas. As lesões osteolíticas aparecem tipicamente no exame como zonas escuras no osso. Contrariamente, as lesões osteoblásticas aparecem como uma zona mais clara do que o restante osso envolvente.

- **Cintigrafia óssea**

Uma das vantagens deste exame reside na possibilidade de visualizar a totalidade do esqueleto, permitindo assim a deteção de metástases ósseas que ainda não provocam sintomas. Neste exame, áreas de elevada atividade óssea, tais como os locais das lesões, aparecem como pontos hipercaptantes pois atraem uma maior quantidade de radiofármaco. Esta técnica de imagem tem maior sensibilidade que a técnica de raios-X, dado que deteta danos funcionais no tecido ósseo, em vez de danos estruturais, pelo que consegue detetar as lesões ósseas mais precocemente. Contudo, esta técnica baseia-se na distribuição e captação óssea do radiofármaco, o qual se concentra não só na matriz óssea saudável, mas também em áreas de nova formação óssea normal, bem como nas metástases ósseas. Consequentemente, as imagens cintigráficas devem ser devidamente analisadas e a idade do doente deve ser considerada, pois doentes cuja matriz óssea não esteja totalmente calcificada podem apresentar áreas de captação anormal que coincidem com áreas de formação óssea nova e não áreas de metástases. A deteção de lesões puramente osteolíticas pode ser difícil atendendo às características associadas à aquisição de imagens cintigráficas do esqueleto.

- **Tomografia computadorizada (CT)**

O exame de tomografia computadorizada (CT) caracteriza-se pela aquisição de imagens recolhidas em vários ângulos em torno da parte anatómica em estudo, obtidas pela rotação de 360° de uma ampola de raios-X. O computador combina as imagens recolhidas numa imagem tridimensional, que pode subsequentemente ser seccionada e interpretada pelo médico. Este tipo de exame é importante na avaliação do tamanho e forma da metástase óssea, bem como no estudo da estabilidade do osso que contém a metástase. Para além disso, este exame é aconselhado para lesões puramente osteolíticas, pois ajuda a perceber o tamanho e forma da lesão.

- **Imagem por Ressonância Magnética (MRI)**

O exame de Ressonância Magnética (MRI) usa campos eletromagnéticos elevados para adquirir imagens de uma área anatómica de interesse, em vez de radiação ionizante. Essencialmente, esta técnica determina as propriedades de um determinado tecido com base nos níveis de energia rotacionais dos diferentes núcleos presentes nos tecidos em estudo, pela magnetização e subsequente

desmagnetização dos mesmos. Este exame é muito utilizado para avaliação de suspeita de compressão da medula espinhal induzida pela metástase óssea.

- **Tomografia por emissão de positrões (PET)**

Para a realização de um exame de tomografia de emissão de positrões (PET), um radiofármaco é injetado por via endovenosa e imagens tridimensionais são adquiridas de todo o corpo ou de uma área anatómica de interesse, utilizando uma camara PET. No contexto de pesquisa de metástases ósseas, duas abordagens são frequentemente utilizadas: (1) administração de ^{18}F -FDG (^{18}F -Fluorodeoxiglucose) para avaliação da proliferação e metabolismo da lesão óssea; e (2) administração de ^{18}F -Floreto de sódio para estudo da matriz óssea. A elevada sensibilidade das imagens PET permite a deteção mais precoce de metástases ósseas, comparado com outras técnicas de imagem anatómica, tais como radiografia, CT e MR.

- **Análises laboratoriais**

Quando um cancro atinge o osso, pode causar a libertação de algumas substâncias na corrente sanguínea que podem ser detetadas através de exames sanguíneos de rotina. Por exemplo, a presença de metástases ósseas leva a um aumento dos níveis de cálcio no sangue, bem como aumento da concentração de fosfatase alcalina. Para além disso, alguns tipos de cancros libertam substâncias designadas por marcadores tumorais na corrente sanguínea (por exemplo, nos cancros da próstata verifica-se a libertação do antigénio específico da próstata, PSA), pelo que, um aumento na concentração destes marcadores pode indicar que o cancro se disseminou para áreas secundárias ao tumor primário.

- **Biopsias**

A confirmação de tecido metastático é frequentemente conseguida por via de exames histopatológicos, nomeadamente através da recolha e análise de uma amostra de tecido por recurso à biopsia.

3.4.3 MÉTODOS DE TRATAMENTO

Atualmente, a maioria dos tratamentos dos tumores metastáticos ósseos tem como principal objetivo o controlo do desenvolvimento do cancro e o alívio dos sintomas provocados por este através de cuidados paliativos. A terapêutica paliativa é centrada no controlo sintomático e preservação da qualidade de vida do doente,

não sendo portanto uma terapia com objetivo de cura. Assim, os principais objetivos dos tratamentos paliativos são: alívio da dor, manutenção da função óssea e controlo do crescimento tumoral local tanto quando possível. O tratamento paliativo tem duas vertentes principais: analgesia e estabilização. A analgesia pode ser conseguida pelo uso de, por exemplo, anti-inflamatórios não esteroides, analgésicos potentes (morfina) e tratamentos que diminuam a reabsorção óssea, tais como os bifosfonatos ou radioterapia local. Por outro lado, a estabilização da patologia pode ser conseguida através da estabilização de fraturas, cirurgia e monitorização dos ossos em risco. A escolha do tratamento das metástases ósseas depende de inúmeros fatores, tais como, tipo de cancro, número e locais dos ossos afetados, fragilidade dos ossos ou presença de fraturas, historial clínico do doente e idade e condição de saúde geral do doente. Tipicamente, os tumores metastáticos são tratados com terapias sistémicas (por exemplo, quimioterapia, radioterapia interna e terapia hormonal), terapia local (por exemplo, cirurgia e radioterapia externa localizada) ou uma combinação de vários tratamentos.

- **Tratamentos sistémicos**

Em muitos casos, especialmente quando o cancro se disseminou para muitos ossos, os tratamentos sistémicos são o método de tratamento preferido, pois conseguem atingir as células carcinogénicas espalhadas por todo o corpo. Abaixo são apresentados os principais métodos de tratamento sistémico de metástases ósseas.

- **Terapia com bifosfonatos**

Os bifosfonatos são grupos de fármacos caracterizados por uma estrutura central contendo fósforo-carbono-fósforo (P-C-P), que promove a ligação à matriz mineralizada do osso.³⁶ O princípio inerente ao uso de bifosfonatos no contexto da terapia das metástases ósseas assenta na sua capacidade inibitória sobre os osteoclastos, diminuindo assim a sua capacidade de reabsorção óssea. Os bifosfonatos provocam também a apoptose dos osteoclastos.³⁶⁻³⁸

Estes fármacos estão indicados para o tratamento de dor óssea proveniente de metástases originárias de cancros primários da mama ou próstata, bem como, prevenção de eventos relacionados com a patologia. Juntamente com a reidratação, os bifosfonatos são o método terapêutico eficiente no controlo da hipercalemia.³⁶

○ **Quimioterapia**

A quimioterapia utiliza fármacos que usualmente são injetados por via endovenosa ou ingeridos por via oral. Estes fármacos entram na corrente sanguínea e atingem as células tumorais. Contudo dado que entram na corrente sanguínea, estes fármacos atingem sempre células normais não-alvo, causando efeitos secundários que dependem do fármaco utilizado e da quantidade administrada. Alguns efeitos secundários comuns da quimioterapia incluem: náuseas, vômitos, perda de cabelo e diarreia.

○ **Tratamento hormonal**

Dado que algumas hormonas estimulam o crescimento tumoral, uma das opções terapêuticas no contexto das metástases ósseas é o bloqueio hormonal. Esse bloqueio hormonal é conseguido através da administração de fármacos que impedem a produção de determinadas hormonas ou por remoção cirúrgica do órgão produtor da hormona.

○ **Imunoterapia**

A imunoterapia é uma terapia sistémica que visa fortalecer o sistema imunitário ou utilizar proteínas do sistema imunitário para destruir as células tumorais. Vários tipos de imunoterapia são utilizados para combater os cancros metastáticos, tais como citoquinas, anticorpos monoclonais ou vacinas tumorais.

○ **Radioterapia com radiofármacos**

A radioterapia é muitas vezes utilizada com intenção paliativa, a fim de suprimir o crescimento tumoral das lesões metastáticas que não ameacem biomecanicamente a estrutura óssea, sendo também utilizada para melhorar a qualidade de vida dos pacientes sem condições para serem submetidos a cirurgia. O tratamento paliativo das metástases ósseas com recurso a radiofármacos é caracterizado pela libertação seletiva de radiação nos tecidos-alvo. O seu sucesso depende da capacidade do radiofármaco ser captado de forma seletiva e mantido de forma prolongada no tecido tumoral. Como será demonstrado no capítulo 4, existem vários radiofármacos atualmente em uso na prática clínica ou em investigação para o tratamento paliativo das metástases ósseas.³⁹

- **Tratamentos locais**

Os tratamentos locais são direcionados a uma área específica do corpo. Estes tratamentos podem ser úteis quando o cancro se disseminou para um único osso, ou então quando existe uma área onde o cancro está mais desenvolvido e necessita de intervenção imediata. Os tratamentos locais incluem:

- **Radioterapia externa**

Esta modalidade de tratamento utiliza um feixe de raios-X ou partícula de elevada energia para destruir as células tumorais ou retardar a sua taxa de proliferação. Para a maioria dos casos, a radioterapia externa proporciona cuidados paliativos para dor óssea localizada, sendo esses resultados obtidos com poucos tratamentos. Uma única sessão com irradiação total de 8 Gy é tipicamente adequada para o alívio da dor, com um alívio parcial da dor em 50-80% dos pacientes irradiados e um alívio total da dor de forma temporária em 30-50% dos casos.^{33,36,40} Os principais efeitos secundários deste tipo de tratamento incluem vômitos, diarreia, febre e toxicidade hematológica.

- **Tratamentos ablativos**

São técnicas que consistem na colocação de uma agulha ou sonda diretamente no tumor, utilizando o calor, frio ou fatores químicos para destruir as células cancerígenas. O método mais comumente utilizado nesta área é o tratamento por radiofrequência, que neutraliza as células tumorais através da introdução de uma agulha no tumor com consequente libertação de corrente elétrica. Outra técnica é a crioablação, onde uma sonda extremamente fria é colocada em contato com o tumor.³³

- **Cirurgia**

A cirurgia é principalmente utilizada para a remoção do tumor primário. Contudo, os tratamentos cirúrgicos podem ser utilizados para remoção de metástases ósseas, com o objetivo de alívio de sintomas, bem como para estabilizar alguns ossos. Sempre que ocorrer uma cirurgia para a estabilização de um osso em risco de fratura esta deve ser seguida de um tratamento de radioterapia para inibir o crescimento tumoral e a destruição óssea. Geralmente, é mais simples estabilizar um osso quando este ainda se encontra intacto, pois nestas condições o período de recuperação e de convalescença é mais curto.³⁶

3.5 CARATERÍSTICAS DAS CÉLULAS ÓSSEAS NORMAIS E METASTÁTICAS

As funções do tecido ósseo saudável, que incluem o suporte e a proteção dos tecidos moles, a manutenção dos níveis de cálcio do sangue e o apoio à hematopoiese, requerem uma contínua renovação do mesmo, isto é, a remodelação óssea. Um equilíbrio entre a destruição óssea (reabsorção) e a formação óssea é, portanto, necessário para a homeostase óssea.

3.5.1 CÉLULAS ÓSSEAS NORMAIS

O tecido ósseo é constituído essencialmente por dois tipos distintos de células, que asseguram a qualidade do tecido: os osteoblastos e os osteoclastos. Os osteoblastos, células osteogénicas, têm aproximadamente 3 meses de vida e provêm das células pluripotentes da matriz mesenquimal. A sua principal função é a produção de colagénio tipo I e proteoglicanas, que formam a estrutura orgânica intracelular do osso que vai ser calcificada. Para além disso, os osteoblastos são também responsáveis pela síntese de vários tipos de proteínas, nomeadamente, osteonectina, osteopontina e osteocalcina. Os osteoclastos, com um tempo de vida de aproximadamente 2 semanas, derivam da linhagem monócito-macrofagal das células hematopoiéticas. Após diferenciação, e quando em contacto com a matriz óssea, estas células ósseas interconectam-se e produzem uma forma polinuclear ativa. A adesão do osteoclasto à matriz óssea cria um microambiente em que a libertação de ácidos (H^+) ou hidrólases inicia o processo de osteólise. Para além disso, os osteoclastos têm a habilidade de fagocitar a matriz óssea e digerir o citoplasma das células da matriz óssea. Na Figura 10 apresenta-se uma representação esquemática da organização e da estrutura do tecido ósseo (imagem à esquerda), bem como, uma imagem histológica do tecido ósseo e as suas células (imagem à direita).

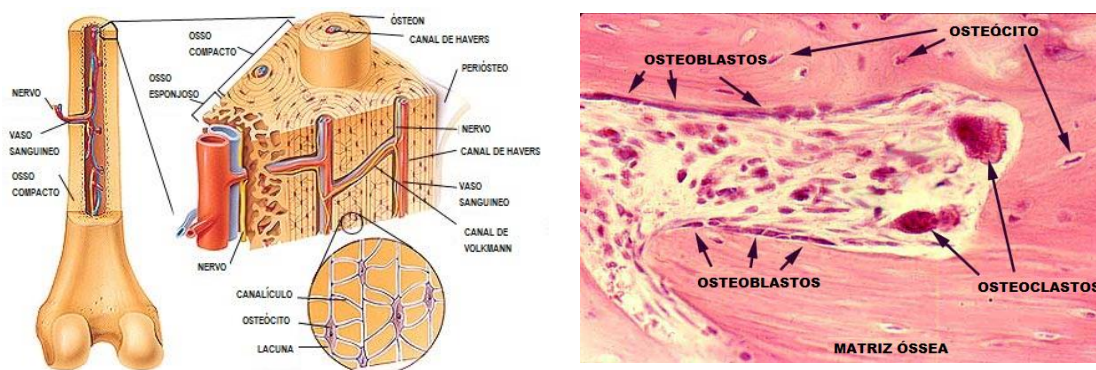


Figura 10: Representação da estrutura e organização do tecido ósseo (à esquerda) e imagem histológica do tecido ósseo com as principais células ósseas: osteoblastos, osteoclastos e osteócitos (à direita).

3.5.2 CÉLULAS ÓSSEAS METASTÁTICAS

A sobrevivência das metástases ósseas resulta da desregulação do mecanismo de *feedback* da remodelação óssea, sendo que tal desregulação pode favorecer a formação óssea originando metástases osteoblásticas ou pode afetar a reabsorção óssea originando metástases osteolíticas.^{41,42} A maioria das lesões metastáticas apresentam evidências da existência de componentes osteolíticos e osteoblásticos, com predominância de um destes componentes.^{32,43}

A comunicação entre as células tumorais e o microambiente do osso apresenta um papel preponderante na determinação da natureza da lesão. As lesões osteolíticas, por exemplo, são provocadas pela ativação dos osteoclastos. O principal mediador da ativação dos osteoclastos é a proteína relacionada com a hormona tiroideia (PTHrP, *parathyroid hormone related protein*). A PTHrP apresenta também um papel preponderante na hipercalcemia, pois provoca um aumento da libertação do cálcio pelo osso.³² A concentração de PTHrP é indetetável em indivíduos saudáveis, mas encontra-se elevada em doentes com tumores, sendo que os níveis de PTHrP são mais elevados nos locais das metástases ósseas do que noutros tecidos com lesões secundárias ou mesmo nos tumores primários.³² A absorção óssea aumentada, resultante da produção excessiva de PTHrP, causa uma libertação de fatores de crescimento. Por sua vez, os fatores de crescimento libertados estimulam a proliferação das células tumorais, as quais continuam a produzir promotores de osteólises como o PTHrP, estabelecendo-se assim um ciclo vicioso de perda de tecido

ósseo (Figura 11).²⁴ No caso específico das células tumorais da próstata, verifica-se que estas expressam o fator transformador de crescimento (TGF- β , *transforming growth factor*), o qual pode afetar a maturação dos osteoblastos. Para além disso, dado que as células tumorais reagem à presença de TGF- β através da libertação de PTHrP, verifica-se ainda um aumento da reabsorção óssea.

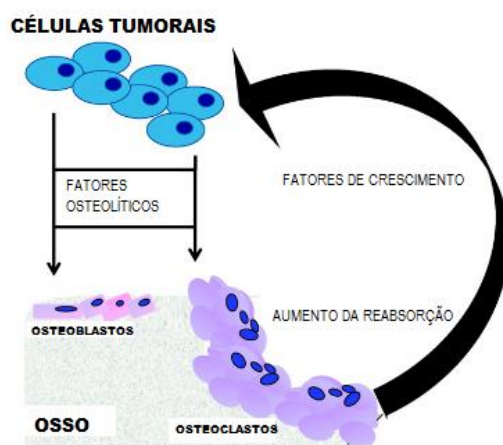


Figura 11: Ciclo vicioso da interação das células tumorais com as células do tecido ósseo que favorece a estabilização e crescimento do tumor.²⁴

O conhecimento científico sobre a interação das células carcinogénicas com o microambiente ósseo tem vindo a aumentar e sabe-se que os diferentes tipos de células, bem como as interações complexas entre o osso, as células tumorais e o estroma, têm um papel distinto na regulação da destruição óssea durante o processo de metastização óssea.

Evidências têm demonstrando que ocorre um aumento da rigidez do tecido envolvente ao foco tumoral, devido à remodelação da matriz extracelular, que por sua vez provoca maiores tensões nas células, aumentando a taxa de proliferação e invasão tecidular. Dado que o tecido ósseo é 10^5 - 10^6 vezes mais rígido que o tecido mole, este facilita a invasão tumoral.²⁴ Estes dados demonstram que as células são sensíveis à rigidez do meio envolvente e isto influencia a sua capacidade de expressar fatores de crescimento, tais como o PTHrP. Para além disso, após a descoberta da influência do PTHrP nas lesões osteolíticas, foi identificado e caracterizado um novo sistema de citosinas capaz de regular a proliferação, a diferenciação, a ativação e a apoptose dos osteoclastos. Este sistema é composto

pelo ligante receptor-ativador do fator nuclear $\kappa\beta$ (RANKL, *receptor activator of nuclear factor $\kappa\beta$ ligant*), o seu receptor RANK e ainda o seu antagonista osteoprotegrina (OPG, *osteoprotegrin*). Estudos demonstraram que o RANKL aumenta o número e o grau de ativação dos osteoclastos, enquanto a OPG inibe a diferenciação e a reabsorção dos osteoclastos.^{28,44} Os próprios osteoblastos tem um papel importante neste ciclo vicioso, pois são as células precursoras dos osteoblastos que produzem o RANKL, que estimula a diferenciação dos osteoclastos.²⁴ Outros fatores osteoclastogénicos têm sido associados ao aumento da atividade dos osteoclastos, nomeadamente a interleucina-1, interleucina-6 e proteína inflamatória 1α dos macrófagos.²⁸ Por sua vez, a diferenciação dos osteoblastos é inibida na presença de TGF- β , resultando assim na inibição de formação de novo osso. Vários grupos de investigação têm demonstrado também que os fibroblastos podem alterar o fenótipo invasivo de algumas células tumorais transformando células tumorais benignas em células tumorais com fenótipo maligno.²⁴

Os produtos de degradação da matriz óssea bem como fatores de crescimento libertados pelas células tumorais, a proteína morfogénica do osso (*bone morphogenetic protein* - BMP), o TGF- β , o fator de crescimento dos fibroblastos (*fibroblast growth factor* - FGF) e os fatores de crescimento similar à insulina (IGF-I e IGF-II, *insuline-like growth factor*) estimulam de formas diferentes a maturação das diversas células do tecido ósseo, sendo que algumas destas, após a estimulação produzem OPG.^{30,45,46} Recentes evidências também sugerem que o TGF- β está envolvido no sistema RANKL e na indução de metástases osteolíticas pelo PTHrP.³²

Uma vez no tecido, as células tumorais, necessitam de aderir aos componentes da ECM e outras células. As integrinas são importantes neste processo, por exemplo, níveis reduzidos de integrina $\alpha_v\beta_3$ estão presentes no tecido ósseo normal e têm um papel importante no processo de ligação entre os osteoclastos e o osso, contudo, a sua expressão encontra-se aumentada no tecido ósseo metastático, sugerindo que esta integrina contribui para o crescimento das metástases.²⁴

3.6 CARACTERÍSTICAS DE CÉLULAS NORMAIS, NEOPLÁSICAS E METASTÁTICAS DA PROSTATA

Os tumores têm tipicamente um tempo de duplicação de 2 a 25 vezes mais rápido do que os tecidos normais.⁴⁷

Estudos realizados anteriormente com o objetivo de investigar os tempos de duplicação das células metastáticas ósseas demonstraram que, se todas as células do tumor se encontrassem em divisão e não houvesse perda de células, o tempo de duplicação do volume do tumor iria refletir o tempo do ciclo celular das células tumorais (T_C). Como se observa um crescimento parcial da população num período igual ao do ciclo celular das células carcinogénicas, conclui-se que o tempo necessário para a duplicação do volume do tumor (T_{pot}) é superior ao T_C , devido à heterogeneidade celular do tumor. Por outro lado, a perda de células no tumor significa que o tempo de duplicação (T_D) é ainda superior. Os tumores humanos tem um T_D médio de 18.4 a 32 meses, dependendo do tipo de tumor, contudo as células tumorais apresentam T_C de 2 a 3 dias e um T_{pot} de 19 a 108 dias.⁴⁷ Dos resultados obtidos no estudo conduzido por Haustermans *et al.* em 1997, no qual se realizou biopsias a sete doentes com cancros da próstata para avaliar a cinética das células tumorais do cancro da próstata, concluiu-se que o tempo da fase S do ciclo celular dessas células varia entre 8.6 a 13.6 horas e que o T_{pot} varia entre 22.7 e 65.1 dias.⁴⁸

As células carcinogénicas metastáticas da próstata, tal como as células normais que as originam, são sensíveis a estimulação por hormonas de crescimento. Na presença dessas hormonas, a percentagem de proliferação (K_p) destas células é estimulada, enquanto na ausência das hormonas a taxa de morte celular (K_d) aumenta. Consequentemente, verifica-se um contínuo crescimento das células metastáticas da próstata quando na presença das hormonas estimuladoras do crescimento, uma vez que, a taxa de proliferação celular supera a taxa de morte celular.⁴⁹ Em contraste, na ausência de androgénios, as células dependentes de androgénios param a proliferação e iniciam mecanismos de morte celular. Por estes motivos, a terapia por ausência de androgénios tem sido utilizada com sucesso como abordagem inicial em 80-90% dos casos de cancro da próstata. Contudo num estado mais avançado da doença, a resposta a este tratamento hormonal deixa de ser

eficiente.⁴⁹ Possivelmente este fenómeno de ineficácia da terapia hormonal em fases avançadas do cancro da próstata ocorre devido à heterogeneidade celular no tumor que aumenta ao longo do tempo, bem como, à presença de células independentes de androgénios nos focos tumorais.

O K_p é calculado através da divisão do valor da fração de células em crescimento (GF) para um dado tipo de célula pelo período intermitótico T_c desse mesmo tipo de célula (expresso em dias), com posterior multiplicação do resultado por 100. O GF é determinado por análises imunocitoquímicas para detetar células em ciclo celular, através da deteção do antígeno Ki67 presente em células em proliferação (G_1 , S, G_2) e ausente em células fora de ciclo (G_0). Ou seja, o GF é a porção de células da amostra marcadas positivamente com o antígeno Ki67. Por outro lado, o T_c é determinado pela observação de culturas de células através de um vídeo com subsequente determinação e quantificação do tempo entre mitoses. O valor K_d , que expressa em percentagem a taxa de morte celular diária, é calculado dividindo a fração de células cuja extremidade do ADN está marcada com transferase terminal (TTF, *terminal transferase*) pela semi-vida das células marcadas, multiplicado por 100. Por último, a taxa de crescimento celular é dada pela subtração de K_d a K_p para cada tipo particular de célula.

No estudo de Berges *et al.* em 1995 concluiu-se que a população de células da próstata em condições normais estáveis, isto é, em condições em que existe renovação celular sem que haja um crescimento significativo da população ou regressão da mesma, apresenta um $T_c=48\pm5$ horas, e que nestas condições uma renovação completa da população (T_D) ocorre em 500 ± 79 dias. Contudo, quando estas células são transformadas obtendo um perfil neoplásico, existe um crescimento de 6.9 vezes K_p com apenas um crescimento de 4 vezes no valor do K_d havendo assim um excesso na proliferação celular, baixando o tempo de duplicação celular nestas condições para 154 ± 22 dias. Quando estas células apresentam um fenótipo metastático esta diferença ainda é mais significativa, pois o K_p apresenta um aumento de 11 vezes o valor da célula normal e 36% superior aos das células neoplásicas, e o K_d aumenta apenas 3.8 vezes em relação as células normais, culminando num tempo de duplicação de 54 ± 5 dias (Tabela 4).⁴⁹

Tabela 4. Principais parâmetros cinéticos de diferentes fenótipos das células da próstata.⁴⁹

Fenótipo celular	K _p (%)	K _d (%)	Tempo de duplicação (dias)
Células epiteliais	0.19±0.03	0.20±0.03	500±70
Células neoplásicas	1.25±0.30	0.80±0.24	154±22
Células metastáticas	2.04±0.29	0.79±0.16	54±5

3.7 SUMÁRIO

O processo metastático é a disseminação de células tumorais a partir do local primário para locais remotos, resultando no estabelecimento de tumores secundários em localizações distantes da original. Certos tipos de tumores têm preferências por locais específicos para o desenvolvimento de metástases, por exemplo, os tumores da próstata e mama geralmente atingem o tecido ósseo. As metástases ósseas têm implicações clínicas significativas e conduzem frequentemente a uma acentuada perda de qualidade de vida dos doentes. As principais manifestações clínicas das metástases incluem dor óssea severa, suscetibilidade a fraturas patológicas e hipercalcemia.

O aparecimento de metástases é o resultado final de várias etapas interdependentes. Essas etapas incluem: disseminação das células tumorais da neoplasia primária para a corrente sanguínea, sobrevivência e migração na circulação sanguínea, extravasão da microvasculatura para o tecido ósseo, colonização e proliferação do osso através de interações com as células ósseas. Várias citosinas e fatores de crescimento produzidos pelas células tumorais interagem com as células do tecido ósseo, de forma a quebrar o equilíbrio no processo normal da renovação osso, desencadeando assim um ciclo vicioso que permite a metástase estabelecer-se e desenvolver-se no tecido ósseo.

As células normais da próstata apresentam um tempo de duplicação celular longo (~500 dias). Após a ocorrência de mutações em genes específicos, estas células podem adquirir um perfil neoplásico com um encurtamento do tempo de duplicação celular (~154 dias) ou um perfil metastático com um encurtamento do tempo de

duplicação celular ainda mais acentuado (~54 dias). Esta transformação do fenótipo celular pode ser o resultado de alterações genéticas com consequente modificação da cinética celular, dado que conforme explicado no capítulo anterior, o ciclo celular é regulado por diversos controlos mediados por moléculas, enzimas e proteínas que são suscetíveis a mutações após dano celular.

Capítulo 4

RADIOFÁRMACOS PARA TERAPIA PALIATIVA DAS METASTASES ÓSSEAS

4.1 INTRODUÇÃO

A terapia com recurso a radiofármacos com afinidade pelo tecido ósseo é um dos procedimentos mais antigos na Medicina Nuclear, sendo utilizado há várias décadas como um método eficiente para o tratamento paliativo de metástases ósseas. Vários novos radiofármacos para tratamento paliativo das metástases ósseas têm sido desenvolvidos e apresentados nas últimas décadas. Radiofármacos com afinidade pelo tecido ósseo são capazes de libertar quantidades significativas de radiação ionizante diretamente no tecido ósseo metastático, mesmo quando este se encontra disperso por todo o esqueleto.

Neste capítulo define-se o conceito de radiofármaco ideal para terapia, descreve-se as características físicas dos radionuclídeos a analisar na presente Dissertação, bem como as evidências pré-clínicas e clínicas de estudos com diferentes radiofármacos desenvolvidos para tratamento paliativo das metástases ósseas.

4.2 RADIOFÁRMACOS PARA TERAPIA PALIATIVA DAS METASTASES ÓSSEAS

Um radiofármaco é definido como uma molécula que combina um composto químico (ex. EDTMP) com um isótopo radioativo (^{153}Sm), por exemplo, ^{153}Sm -EDTMP.⁵⁰ Contudo este pode também ser apenas o elemento radioativo, como por exemplo, o ^{32}P . Um radiofármaco pode ser usado para diagnóstico ou tratamento de diferentes patologias. Na Medicina Nuclear cerca de 95% dos radiofármacos são utilizados com propósito de diagnóstico e apenas 5% dos radiofármacos são usados para tratamento.⁵⁰ Dado que os radiofármacos são desenvolvidos para administração em humanos, estes devem obedecer a todas as regras associadas com a administração de fármacos, nomeadamente, ser estéreis e apirogénicos, e devem também respeitar as regras associadas com o uso de material radioativo.

A utilidade de um radiofármaco para terapia é ditada pelas características físicas do radioisótopo, nomeadamente, modo de decaimento, energia, tempo de semi-vida e poder de penetração; bem como pelas propriedades químicas da

molécula a este associada (se aplicável), a qual determina a biodistribuição do radiofármaco *in vivo*.⁵¹

4.2.1 CARACTERÍSTICAS DE UM RADIOFÁRMACO IDEAL PARA TERAPIA

O sucesso da terapia com radiofármacos assenta essencialmente na capacidade do radiofármaco ser captado de forma seletiva e mantido por tempo prolongado no tecido tumoral. Esta terapia visa a libertação de energia radioativa controlada e localizada ao tecido alvo com toxicidade limitada e poucos efeitos secundários de longa duração. Algumas das principais características de um radiofármaco ideal para terapia são as seguintes:

- **Facilmente disponível:** o radiofármaco deve ser facilmente produzido, deve ter um baixo custo de produção e deve estar acessível a qualquer departamento de Medicina Nuclear. Métodos complexos de produção de radionuclídeos ou precursores para a síntese do radiofármaco, são subótimos e aumentam os seus custos de produção. Também a distância geográfica entre o local de produção e o utilizador final limita a utilização de radiofármacos de curta semi-vida.
- **Elevada razão tecido alvo/tecido não-alvo:** É desejável que o radiofármaco se localize preferencialmente no órgão a tratar (isto é no tecido alvo), pois a concentração da radioatividade em tecidos adjacentes não-alvo pode provocar efeitos secundários indesejados. Quando maior a razão alvo/não-alvo, maior será a eficácia terapêutica e menor serão as doses de radiação aos tecidos saudáveis.
- **Rápida remoção da corrente sanguínea e dos tecidos não-alvo:** É desejável que o radiofármaco seja captado pelo tecido alvo tão rápido quanto possível, ficando subsequentemente retido nele, mas também que a sua eliminação do sistema sanguíneo e dos tecidos não-alvo seja realizada de forma eficiente e no menor período de tempo possível, reduzindo assim a exposição à radiação dos tecidos saudáveis.

- **Distribuição uniforme da radiação pelo tecido alvo:** a emissão de radiação (partículas ou fótons) deve atingir todas as células do tecido alvo de forma semelhante para garantir um tratamento eficiente e homogêneo, mesmo em tumores heterogêneos e de elevadas dimensões.
- **Estabilidade radioquímica:** um radiofármaco tem que ser estável quer *in vitro* quer *in vivo*, pois a quebra de ligações no radiofármaco sintetizado irá levar à formação de moléculas diferentes da original, as quais poderão ter uma biodistribuição indesejável *in vivo*, potencialmente levando à irradiação de tecidos não-alvo.

4.2.2 CONSIDERAÇÕES NA ESCOLHA DOS RADIOFARMACOS PARA TERAPIA PALIATIVA DAS METASTATES ÓSSEAS

A escolha do radiofármaco a utilizar em terapia paliativa das metástases ósseas assenta em diversos critérios, nomeadamente, na semi-vida física do radioisótopo; na extensão da doença metastática; no volume de cada lesão, o que tem implicações ao nível do poder de penetração das partículas emitidos pelo radioisótopo; na capacidade funcional da medula óssea; e na disponibilidade e custo do radiofármaco.³⁹ Abaixo descreve-se em maior pormenor alguns dos aspetos a considerar aquando da escolha ou do desenvolvimento de um radiofármaco para terapia:

- **Semi-vida física do radioisótopo:** A semi-vida física é uma variável importante a considerar aquando do design do radiofármaco, pois pode influenciar a eficácia do mesmo. Para se maximizar a eficácia terapêutica do agente, a taxa de decaimento do radioisótopo deve ser adequada à biodistribuição do agente no tecido alvo bem como à remoção deste da corrente sanguínea e restantes tecidos não-alvo. Do ponto de vista da produção e distribuição do radiofármaco, radioisótopos com semi-vidas longas asseguram tempo para a síntese do radiofármaco, bem como para a realização dos testes de qualidade e despacho do mesmo para longas distâncias com perdas mínimas

devido ao decaimento, o que garante uma produção economicamente viável.⁵¹

- **Tipo de partícula radioativa emitida pelo radioisótopo:** Vários tipos de partículas radioativas têm sido avaliados para terapia com recurso a radioisótopos, nomeadamente, partículas beta, alfa e eletrões de Auger. Tradicionalmente, radioisótopos emissores de partículas β^- têm sido os mais utilizados, devido à grande disponibilidade de radiofármacos radiomarcados com emissores de partículas β^- .⁵² Contudo, alguns destes radioisótopos não são ideais quando o objetivo é a distribuição global dos mesmos, devido a níveis de disponibilidade insuficientes, à incapacidade de obter o radioisótopo com elevada atividade específica ou a semi-vidas reduzidas.³⁹ Nos últimos anos, as partículas alfa têm despoletado um elevado grau de interesse na comunidade científica, pois estas partículas estão associadas a uma elevada LET e a uma reduzida distância de penetração. Por seu lado os eletrões Auger têm sido considerados como partículas com significativo potencial terapêutico, pois quando depositados nas vizinhanças do núcleo celular, os eletrões de Auger têm um comportamento idêntico à radiação de elevada LET.
- **Distância de penetração da partícula radioativa:** Existem essencialmente três principais tipos de partículas radiativas com interesse para a radioterapia localizada: partículas beta menos (β^-), partículas alfa (α) e eletrões Auger. As partículas α , cuja deposição de energia se observa num curto raio em torno do local de emissão, atinge frequentemente um pequeno grupo de células (poder de penetração típico inferior a 100 μm). As partículas β^- apresentam um poder de penetração de alguns milímetros, que porventura pode resultar na irradiação das células vizinhas, fenómeno designado de *crossfire*. Os eletrões Auger são eletrões de baixa energia (energia típica de aproximadamente 20-100 keV) e com baixo poder de penetração, entre poucos nanómetros até alguns micrómetros. Devido ao baixo poder de penetração tanto dos eletrões Auger como

das partículas α , a radioterapia sistêmica localizada com recurso a estas partículas radioativas provoca, geralmente, uma menor toxicidade a medula óssea quando comparados com as partículas β^- .

- **Emissão de fótons gama pelo radioisótopo:** A emissão de fótons gamas pelo radioisótopo é útil para a realização de imagem médica, a qual possibilita a observação da biodistribuição do radiofármaco para avaliação da resposta terapêutica, bem como a obtenção de estudos de dosimetria que visam determinar qual a dose de radiofármaco adequada ao tratamento de um dado doente.
- **Capacidade funcional da medula óssea:** O órgão crítico nas terapias paliativas das metástases ósseas com recurso a radiofármacos é a medula óssea, pois encontra-se localizado no interior do osso (isto é, o tecido alvo) e é extremamente sensível a radiação. Contudo, todos os radioisótopos frequentemente utilizados em terapia paliativa das metástase ósseas, quando utilizados em doses recomendadas, estão associados a uma toxicidade medular reduzida e transitória, com exceção do ^{32}P , que provoca mais efeitos hematológicos que os restantes radioisótopos tipicamente utilizados para terapia paliativa das metástases ósseas.

4.2.3 MECANISMOS DE CAPTAÇÃO ÓSSEA DO RADIOFÁRMACO

O radiofármaco, uma vez administrado por via endovenosa, viaja pela corrente sanguínea e concentra-se no tecido ósseo. A captação dos radiofármacos é maior em locais de nova formação óssea ou em locais de atividade óssea aumentada, devido ao elevado fluxo sanguíneo e ao aumento da área de contato com moléculas da matriz da hidroxiapatita, à medida que esta vai sendo formada, nesses locais. Deste modo, a eficiência da captação do radiofármaco pelas metástases ósseas baseia-se na captação seletiva e na retenção prolongada do mesmo nos locais de elevada atividade osteoblástica, isto porque, conforme explicado anteriormente no capítulo 3, a remodelação da matriz óssea ocorre como consequência da presença de células neoplásicas. Assim, o uso de radiofármacos

com afinidade pelo tecido ósseo apresentam um papel particularmente preponderante no tratamento de dor proveniente de metástases osteoblásticas.

Existem vários biomarcadores que podem ser facilmente medidos para avaliar a atividade osteoblástica, incluindo a sialoproteína óssea (BSP, *bone sialoprotein*), a fosfatase alcalina específica do osso (BAP, *bone-specific alkaline phosphatase*), a osteocalcina e o OPG. Por outro lado, a atividade dos osteoclastos pode ser avaliada através do estudo dos níveis da piridinolina (PYD, *pyridinoline*), da deoxipiridinolina (DPD, *deoxypyridinoline*) e dos fragmentos peptídicos do colagénio tipo I. Ambos os tipos de biomarcadores podem ser utilizados para avaliar, numa primeira instância, a eficiência dos radiofármacos no contexto da terapia paliativa das metástases ósseas.

De uma forma geral, os mecanismos de captação dos radiofármacos podem ser divididos em dois grandes grupos: (1) radioisótopos puros pertencentes à família IIA da tabela periódica com afinidade para o tecido ósseo, com por exemplo o ^{89}Sr e o ^{32}P , que têm a capacidade de se incorporar diretamente na matriz óssea, dado que estes radioisótopos têm a mesma carga divalente do cálcio elementar; e (2) radiofármacos constituídos por radioisótopos associados um agente ou molécula química com afinidade pelo tecido ósseo.⁵³ Exemplos destes compostos químicos com afinidade pelo tecido ósseo incluem o ácido tetra-metilfosfonico-etilenodiamina (EDTMP) e o ácido dietileno-triamina-pentacético (DTPA).

4.3 RADIOISÓTOPOS ATUALMENTE EM USO CLÍNICO OU EM INVESTIGAÇÃO PARA TERAPIA PALIATIVA DAS METÁSTASES ÓSSEAS

Ao longo dos anos, vários esforços tem sido feitos de forma a identificar radionuclídeos com propriedades físicas ideais para o uso clínico no tratamento paliativo de metástases ósseas, bem como no desenvolvimento de melhores agentes químicos com afinidade pelo o tecido alvo (isto é, o tecido ósseo).

Recentemente, o interesse da comunidade científica e médica em geral na investigação de radiofármacos para o tratamento de metástases ósseas tem vindo a aumentar e diversos estudos têm sido publicados sobre esta temática. Os

radionuclídeos investigados para esta aplicação incluem: ^{32}P , ^{89}Sr , ^{90}Y , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{170}Tm , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re e ^{223}Ra . As principais características físicas de cada um dos radionuclídeos são descritas na Tabela 5.

Tabela 5. Características físicas dos radioisótopos atualmente em uso clínico ou sob investigação para terapia paliativa das metástases ósseas.

Radioisótopo	$T_{1/2}$ (dias)	Energia	Energia	Penetração	Emissão Gama		Ref.
		Máxima (MeV)	Média (MeV)	Máxima (mm)	Penetração Média (mm)	MeV (%) abundância)	
^{32}P	14.3	1.71	0.70	7.9	3	-	22,41,53
^{89}Sr	50.5	1.46	0.58	7.0	2.4	0.909 (0.10%)	22,41,53
^{90}Y	2.7	2.27	0.93	12	4.0	-	22,41
$^{117\text{m}}\text{Sn}$	13.6	0.127	-	0.27	0.2	0.159 (86%)	22,41,53
^{153}Sm	1.9	0.81	0.23	2.5	0.6	0.103 (28%)	22,41,53
^{166}Ho	1.1	1.84	0.67	8.5	3.3	0.80 (6.2%)	41
^{170}Tm	128.6	0.968	0.28	5	1	0.84 (3.26%)	41,54
^{177}Lu	6.7	0.49	0.14	1.8	0.3	0.208 (11%)	22,41
^{186}Re	3.7	1.07	0.33	4.5	1.1	0.137 (9%)	22,41,53
^{188}Re	0.7	2.12	0.73	11.0	2.7	0.155 (10%)	22,41
^{223}Ra	11.4	27.78	5.78	-	<0.1	0.154 (5.4%)	22,41,54

O ^{89}Sr e o ^{32}P foram os primeiros radioisótopos a ser investigados para o tratamento paliativo de metástases ósseas, sendo que os primeiros estudos datam de 1941.^{55,56,57} No final dos anos 80, o ^{186}Re foi identificado como um potencial agente terapêutico, sendo que atualmente estudos clínicos com o ^{186}Re -hidroxietileno difosfonato (HEDP) estão a ser realizados.⁵⁸ Atualmente, um dos radioisótopos mais utilizado no tratamento paliativo de metástases ósseas é o ^{153}Sm , o qual obteve aprovação para uso clínico pela Agência Americana de Controle de Alimentação e Drogas (FDA, *Food and Drug Administration*) em 1997.⁵⁹ O ^{89}Sr é outro dos radioisótopos correntemente utilizado para o alívio da dor óssea, tendo sido

aprovado pela FDA para uso clínico em 1993.⁶⁰ Múltiplos estudos recentes têm demonstrado o potencial do ^{223}Ra como agente terapêutico das metástases ósseas, particularmente devido ao baixo poder de penetração das partículas α emitidas por este radioisótopo. O ^{223}Ra foi aprovado pela FDA para uso clínico em 2013, após ensaios clínicos demonstrarem um aumento significativo da esperança de vida dos doentes com metástases ósseas tratados com dicloreto de ^{223}Ra ($^{223}\text{RaCl}_2$).⁶¹ Outros radionuclídeos recentemente propostos para o tratamento paliativo de metástases ósseas incluem, o ^{177}Lu , devido as suas características físicas promissoras, o ^{188}Re e o $^{117\text{m}}\text{Sn}$ que atualmente estão sob investigação clínica, e ainda o ^{90}Y , ^{166}Ho e o ^{170}Tm .

Apesar do aumento significativo do número de radioisótopos disponíveis para o tratamento paliativo de metástases ósseas, a escolha do agente terapêutico a usar não é consensual a nível global e não existem *guidelines* ou processos que assistam nesta escolha. Tal ocorre, possivelmente, devido à disponibilidade reduzida de informação à cerca das vantagens e desvantagens de cada radioisótopo, bem como devido ao limitado número de estudos que avaliem todos os radiofármacos nas mesmas condições experimentais.

4.3.1 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM FÓSFORO-32 (^{32}P)

Desde há mais de 5 décadas que o ^{32}P é utilizado para o alívio da dor óssea. Os primeiros resultados de estudos com ^{32}P foram reportados por Friedell e Storaasli em 1950.^{56,57} O ^{32}P decai por emissão de partículas β^- para o Enxofre-32 no estado fundamental, com um tempo de semi-vida de 14.28 dias, uma energia total de 171 MeV e uma energia média de 0.70 MeV (Tabela 6). As partículas β^- emitidas pelo ^{32}P apresentam um poder de penetração médio de 3 mm, atingindo um máximo de 8.5 mm no tecido mole. O ^{32}P é obtido através da irradiação do Enxofre-32 com neutrões de alta velocidade num reator nuclear ($^{32}\text{S}(n,p)^{32}\text{P}$), apresentando assim um baixo custo de produção, com este método de produção existe a possibilidade de presença de impurezas (^{33}P e ^{35}S). Outras alternativas para a produção de ^{32}P são através do enriquecimento do ^{31}P , $^{31}\text{P}(n,\gamma)^{32}\text{P}$ ou então como resultado do decaimento do ^{34}S , $^{34}\text{S}(d,\alpha)^{32}\text{P}$.^{62,63}

Tabela 6. Sumário das principais características físicas do decaimento radioativo do ^{32}P .

Emissão	Energia Média (KeV)	Fração de decaimento (%)
$\beta_{0,0}$	695.5	100

O ^{32}P -ortofosfato é administrado por via oral, numa dose típica de 450 MBq (12 mCi). Cerca de 85% da dose administrada é incorporada na estrutura da hidroxiapatita, sendo o remanescente excretado por via renal.⁶⁴ Devido ao elevado poder de penetração das partículas β^- emitidas pelo ^{32}P , a medula óssea irá receber uma quantidade significativa de radiação, resultado em mielossupressão.⁶⁵ Estudos em ratos demonstraram que a razão alvo:não-alvo do ^{32}P -ortofosfato é de 3:1 a 5:1.⁶⁴ A taxa de resposta terapêutica do ^{32}P -ortofosfato no alívio da dor óssea descrita na literatura atinge o valor aproximado de 85%, sendo que a duração da resposta ao tratamento varia entre os 2 e os 7 meses.⁶⁵ Contudo, devido aos efeitos secundários significativos, em especial os seus consideráveis efeitos mielossupressores, o ^{32}P -ortofosfato deixou de ser recomendado para tratamento clínico, apesar de, nos últimos anos, estudos terem verificado que os níveis de mielossupressão induzidos pelo ^{32}P -ortofosfato são idênticos aos apresentados após tratamento com $^{89}\text{SrCl}_2$. Estas observações têm levado a comunidade científica a reavaliar/reconsiderar o uso clínico do ^{32}P -ortofosfato devido ao seu baixo custo de produção.^{57,66}

4.3.2 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM ESTRÔNCIO-89 (^{89}Sr)

O ^{89}Sr foi um dos primeiros radiofármacos a ser utilizado para o tratamento paliativo de metástases osseas.⁶⁵ Este radioisótopo é um emissor de partículas β^- , que decai preferencialmente para o Ítrio-89, com uma energia máxima de 1.46 MeV, uma energia média de 0.58 MeV e uma abundância de 0.01% de emissão gama com energia de 0.91 MeV (Tabela 7). As partículas β^- emitidas pelo ^{89}Sr têm uma penetração média de 2.4 mm em tecidos moles. A sua semi-vida característica é de 50.5 dias. Este radioisótopo é preparado a partir do Estrôncio-88 num reator com alto fluxo de neutrões, ($^{88}\text{Sr}(n,\gamma)^{89}\text{Sr}$) sendo uma alternativa válida para o tratamento

paliativo da dor óssea, apesar da possibilidade da presença de impurezas como o ^{85}Sr e ^{90}Sr . Este radioisótopo também pode ser produzido através de um produto de fissão nuclear, apesar deste método de produção também estar associado à ocorrência de impurezas radioativas na preparação final, tais como o ^{90}Sr . O ^{89}Sr pode ainda ser obtido com recurso às seguintes reações nucleares: $^{87}\text{Sr}(t,p)^{89}\text{Sr}$ ou $^{86}\text{Kr}(\alpha,ny)^{89}\text{Sr}$, $^{86}\text{Kr}=\text{Crióton-86}$.⁶²

Tabela 7. Sumário das principais características físicas dos decaimentos radioativos do ^{89}Sr .

Emissão	Energia Média (KeV)	Fração de decaimento (%)
$\beta_{0,0}$	584.6	99.9903
$\beta_{0,1}$	189.1	0.0096
$\gamma_{0,0}$	909.0	0.0095

Estudos demonstraram que após 3 meses da administração de cloreto de Estrôncio-89 ($^{89}\text{SrCl}_2$), cerca de 80 a 90% do radiofármaco permanece no tecido ósseo em formação ativa enquanto apenas 20% encontra-se retido no tecido ósseo normal. A principal via de eliminação do $^{89}\text{SrCl}_2$ é renal (cerca de 80%), sendo o restante eliminado por via fecal (20%). Estudos de biodistribuição em humanos demonstram que o $^{89}\text{SrCl}_2$ apresenta uma razão alvo:não-alvo (isto é, metástases comparado com restante osso) de 10:1.^{58,64}

A dose de administração recomendada de $^{89}\text{SrCl}_2$ é de 148 MBq (4 mCi) ou de 1.48 MBq/Kg, existindo possibilidade de repetição do tratamento após 3 meses. A mielosupressão moderada para doses baixas de $^{89}\text{SrCl}_2$ aumenta à medida que a dose administrada aumenta, contudo esta desaparece após 10 a 16 semanas do início do tratamento.^{65,68} O tratamento tem uma duração típica de 3 a 6 meses. O tempo de resposta ao tratamento pode ocorrer tão cedo como em 3 dias, mas mais comumente é notada na segunda ou terceira semana após administração do radiofármaco.⁶⁷

Os dados publicados apresentam uma taxa de resposta que varia entre os 65% e os 90%, enquanto a resposta total ao tratamento varia entre os 5% e os 20% dos pacientes injetados.^{65,68} Para além disso, após tratamento com $^{89}\text{SrCl}_2$, verifica-se uma taxa menor de ocorrência de novos locais de dor, sendo que este efeito pode estar relacionado com a longa semi-vida do ^{89}Sr . De facto, estudos em cultura celulares, demonstraram uma óbvia inibição na proliferação celular quando as células eram tratadas com ^{89}Sr , existindo uma correlação positiva entre a inibição na proliferação celular e a concentração do radioisótopo.⁸

A toxicidade do tratamento com $^{89}\text{SrCl}_2$ é limitada e a mielossupressão induzida tem carácter temporário. Num estudo realizado por Nilsson e colaboradores que investigou os efeitos secundários do tratamento com $^{89}\text{SrCl}_2$ versus a quimioterapia, observou-se que 2 dos 14 doentes tratados com $^{89}\text{SrCl}_2$ tiveram que ser hospitalizados devido aos efeitos secundários dessa terapêutica, versus 7 dos 14 doentes tratados com quimioterapia.⁶⁹

A principal desvantagem do ^{89}Sr é o seu custo, devido às dificuldades inerentes à sua produção.

4.3.3 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM ÍTRIO-90 (^{90}Y)

O ^{90}Y decai maioritariamente com emissão de partículas β^- para o estado fundamental do Zircónio-90. O ^{90}Y apresenta uma semi-vida de 64.1 horas (2.7 dias), as suas partículas β^- possuem uma energia máxima emitida de 2.27 MeV e diferentes energias médias dependendo do tipo de partícula emitida (Tabela 8). O poder de penetração das partículas β^- emitidas pelo ^{90}Y é de 4 mm em tecidos moles. O ^{90}Y pode ser obtido tanto por enriquecimento do ^{89}Y , (via $^{89}\text{Y}(n,\gamma)^{90}\text{Y}$), com possibilidades de contaminação pela presença do ^{91}Y ; pelo gerador $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$; ou pelo recurso ao Rubídio-87 (^{87}Rb) por via da seguinte reação $^{87}\text{Rb}(\alpha,n)^{90\text{m}}\text{Y}(\text{I.T.})-^{90}\text{Y}$.^{62,64}

Após administração, o ^{90}Y não é facilmente excretado do organismo vivo, pelo que este tende a acumular-se no fígado de forma transitória antes de ser depositado no osso.⁷⁰ Para além disso, a acumulação de ^{90}Y nas superfícies de hidroxiapatite (por exemplo, o cloreto de ^{90}Y apresentou uma captação de 1.75% no tecido esquelético de ratos)⁷¹ pode levar à formação de hidroxite coloidal ou

complexos de ítrio-transferrina, os quais têm a tendência de se acumular em órgãos do sistema reticuloendotelial.⁷² Por estes motivos, o uso de ⁹⁰Y enquanto agente radioterapêutico com contexto das metástases ósseas foi descartado, preferindo-se a utilização do ⁹⁰Y ligado ao EDTMP ou ao complexo 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-ácido tetra-acético (DOTA) conjugado com bifosfonatos (DOTA-HBP).⁷³

Tabela 8. Sumário das principais características físicas dos decaimentos radioativos do ⁹⁰Y.

Emissão	Energia Média (KeV)	Fração de decaimento (%)
CE-K	768.7	0.003
$\beta_{0,1}$	163.7	0.017
$\beta_{0,0}$	926.7	99.98

O complexo ⁹⁰Y-EDTMP apresentam uma rápida remoção da corrente sanguínea e uma elevada concentração no tecido ósseo. Em ratas, verificou-se que após injeção de ⁹⁰Y-EDTMP, 45% da dose injetada se localizava no tecido ósseo.⁷¹ Em ratos, este radiofármaco apresenta uma semi-vida biológica superior a 72 horas no osso.⁷² Também o complexo ⁹⁰Y-DOTA-HBP apresenta uma rápida remoção da atividade dos tecidos moles e corrente sanguínea, bem como uma elevada acumulação no tecido ósseo.⁷³

Estudos clínicos com recurso ao ⁹⁰Y-EDTMP ou ao ⁹⁰Y-DOTA-HBP para tratamento paliativo das metástases ósseas não se encontram atualmente disponíveis, pelo que dados relativos à resposta terapêutica dos mesmos são desconhecidos. Contudo, num estudo de dosimetria com recurso a Ítrio-86 (⁸⁶Y) e PET, foi possível confirmar a captação de ⁸⁶Y-EDTMP por parte das metástases ósseas de doentes com cancro na próstata,⁷⁴ sugerindo que o uso de ⁹⁰Y-EDTMP pode ser útil no tratamento de metástases ósseas em humanos. Uma potencial limitação da utilidade do ⁹⁰Y no contexto da terapia paliativa das metástases ósseas relaciona-se com o elevado poder de penetração das suas partículas β^- (cerca de 4 mm), que pode levar ao aparecimento efeitos secundários indesejáveis, nomeadamente ao nível da capacidade funcional da medula óssea.

4.3.4 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM ESTANHO-117m (^{117m}Sn)

O ^{117m}Sn decai por transformação isomérica com emissão de fótons gama e elétrons para o Estanho-117 estável (Tabela 9). A energia máxima dos elétrons emitidos aquando do decaimento do ^{117m}Sn ronda os 0.16 MeV, enquanto a energia máxima dos fótons gama é de 159 keV (86%). O ^{117m}Sn tem uma semi-vida física de 13.6 dias. Os elétrons emitidos pela conversão electrónica tem um pequeno poder de penetração na tecido mole (máximo de 0.3 mm). O ^{117m}Sn pode ser produzido tanto por enriquecimento do ^{116}Sn , $^{116}\text{Sn}(n,\gamma)^{117m}\text{Sn}$, ou do ^{117}Sn , $^{117}\text{Sn}(n,n')^{117m}\text{Sn}$; porém a sua produção em larga escala apresenta limitações, motivo pelo qual outros processos de produção de ^{117m}Sn têm sido investigados, nomeadamente métodos de bombardeamento de Cádmio-116 (^{116}Cd) e do Índio-115 (^{115}In) com ^3He .⁷⁵

Tabela 9. Sumário das principais características físicas dos principais decaimentos radioativos do ^{117m}Sn .

Emissão	Energia Média (KeV)	Intensidade de decaimento ((Bq-s) ⁻¹)
Auger-L	3.0	91.0
Auger-K	21.0	10.8
CE-K1	126.8	64.8
CE-K2	129.4	11.7
CE-L1	151.9	26.1
CE-L2	154.1	1.5
CE-M1	155.1	5.6
Fótons Gama	158.6	86.4

O ^{117m}Sn -DTPA é um radiofármaco atualmente em estudo para o tratamento de metástases ósseas.^{76,77} Estudos de dosimetria anteriormente publicados em humanos demonstraram que a administração de ^{117m}Sn -DTPA resulta numa dose absorvida média de 0.043 cGy/Mbq na medula óssea e de 1.07 cGy/MBq no osso, verificando-se ainda que cerca de 77.6% da atividade administrada estava contida no osso.⁷⁶ O pico de captação óssea do ^{117m}Sn -DTPA é atingido entre os 3 e 7 dias, não ocorrendo posterior redistribuição do radiofarmaco após a sua captação. Estima-se que a taxa de resposta ao tratamento com ^{117m}Sn -DTPA é de 75% (60-83%), com respostas completas em 30% dos casos. A duração do tratamento é de cerca de 98 dias, apresentando como efeitos secundários uma pequena mielossupressão.⁷⁶

4.3.5 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM SAMÁRIO-153 (^{153}Sm)

O ^{153}Sm foi aprovado com uso clínico nos anos 90.⁵⁸ Este radioisótopo desintegra-se, com concomitante emissão de partículas β^- , para o Európio-153. A energia máxima e média das partículas emitidas é de 0.81 MeV e de 0.23 MeV, respetivamente. A penetração média das partículas β^- do ^{153}Sm é de cerca de 0.6 mm em tecidos moles, podendo atingir uma penetração máxima de 2 a 3 mm. Aquando do seu processo de decaimento radioativo, o ^{153}Sm emite ainda radiação gama (28% de abundancia) com energia de 0.103 MeV (Tabela 10). A semi-vida característica do ^{153}Sm é de 1.9 dias (46.3 horas). O ^{153}Sm pode ser obtido num reator nuclear por via de bombardeamento do $^{152}\text{Sm}_2\text{O}_3$ com neutrinos ($^{152}\text{Sm}(n,\gamma)^{153}\text{Sm}$) ou com recurso ao enriquecimento do Neodímio-150 ($^{150}\text{Nd}(\alpha,n)^{153}\text{Sm}$).⁶²

O ^{153}Sm ligado ao EDTMP⁷⁸⁻⁸¹ ou ao ácido tetra-azaciclo-dodecano tetra-metileno-fosfónico (DOTMP)⁸² apresenta uma biodistribuição favorável para o tratamento de metástases ósseas, uma vez que se acumula preferencialmente em zonas de formação de tecido ósseo.⁸³

Tabela 10. Sumário das principais características físicas dos principais decaimentos radioativos do ^{153}Sm .

Emissão	Energia Média (KeV)	Fração de decaimento (%)
Auger-L	3.4-7.8	53.0
CE-K _{5,3}	21.154	20.5
CE-K _{3,0}	54.66	41.4
$\beta_{0,5}$	199.7	30.4
$\beta_{0,3}$	225.3	49.2
$\beta_{0,0}$	264.3	19.5
$\gamma_{3,0}$	103.2	29.2

O ^{153}Sm -EDTMP apresenta efeitos significativos no alívio da dor e consumo de analgésicos. Em doentes com metástases ósseas ocorre uma captação de 50 até 65% da atividade injetada no tecido ósseo, com maior incidência nos locais de metástases osteoblásticas. A restante percentagem de radiofármaco não acumulado no osso é totalmente removida da circulação nas primeiras horas, com acumulação mínima nos outros órgãos não alvo e uma excreção principalmente por via renal. O ^{153}Sm -EDTMP apresenta uma razão que varia entre 4:1 e 7:1 entre os locais das lesões metastáticas e o osso normal.⁶⁴ O grau de mielossupressão induzida pela administração do ^{153}Sm -EDTMP é proporcional à dose administrada. A dose recomendada de ^{153}Sm -EDTMP é de 37 MBq/kg (1mCi/kg), a ser administrada por via endovenosa, com repetição do tratamento possível após 2 meses da última administração.⁸⁰ A mielossupressão suave provocada pelo tratamento é totalmente recuperável após um período entre 6 a 8 semanas. O tempo de resposta ao tratamento varia entre 3 e 30 dias após a administração de ^{153}Sm -EDTMP e tem uma duração média de 3 meses. A taxa de resposta à terapêutica pode chegar até aos 83%.⁸⁴

Também o ^{153}Sm -DOTMP se apresenta como um radiofarmaco promissor no tratamento de metástases ósseas. Apesar de ainda não existirem dados clínicos, estudos em modelos animais (ratos) demonstraram que este radiofármaco apresentava uma captação por parte do tecido ósseo a variar entre 40% até 70% da atividade administrada, sendo o remanescente excretado por via do sistema urinário.⁸² Destas observações, pode-se concluir que o ^{153}Sm -DOTMP apresenta uma biodistribuição muito similar à do ^{153}Sm -EDTMP. A grande vantagem do ^{153}Sm -DOTMP em relação ao ^{153}Sm -EDTMP é que o ^{153}Sm -EDTMP apresenta saturação do sistema urinário a quando da administração de doses elevadas, algo que ainda não foi detetado com a administração de ^{153}Sm -DOTMP, permitindo assim, administrar doses que possibilitariam uma terapia curativa sem comprometer o sistema urinário.⁸²

4.3.6 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM HÓLMIO-166 (^{166}Ho)

O ^{166}Ho decai com concomitante emissão de partículas β^- para níveis excitados do Érbio-166, com um valor de energia de decaimento total de 1,84 MeV e um tempo de semi-vida de 26.795 dias (Tabela 11). As partículas β^- emitidas pelo ^{166}Ho apresentam um elevado poder de penetração nos tecidos moles atingindo um máximo de 8 mm (penetração média de 3.3 mm). O ^{166}Ho pode ser obtido tanto por enriquecimento do ^{165}Ho , como com recurso ao decaimento do Érbio-167, $^{167}\text{Er}(t)$ - ^{166}Ho , ou do Dísprosio-166, ^{166}Dy ($T_{1/2}$ = 81.6 horas).⁶²

Vários compostos químicos têm sido radiomarcados com ^{166}Ho de forma a produzir radiofármacos para terapia paliativa das metástases ósseas, nomeadamente, o DOTMP, o EDTMP e o ácido 1,2-propileno-diamino-tetrametil-1-enefosfórico (PDTMP).

O ^{166}Ho -DOTMP é um agente promissor para o tratamento paliativo das metástases ósseas, uma vez que apresenta uma elevada acumulação nas zonas ativas do tecido ósseo, juntamente com uma rápida remoção da corrente sanguínea e uma excreção maioritariamente urinária. Contudo, o seu potencial para o tratamento de metástases ósseas pode ser limitado devido à elevada energia das suas partículas β^- (E_{max} = 1.84 MeV) e ao seu elevado poder de penetração.⁸⁵

Tabela 11. Sumário das principais características físicas dos principais decaimentos radioativos do ^{166}Ho .

Emissão	Energia Média (KeV)	Fração de decaimento (%)
Auger-L	3.9-7.6	28.0
CE-L _{1,0}	70.82-72.2	20.5
$\beta_{0,1}$	651.1	50.5
$\beta_{0,0}$	693.8	48.2

A escolha da radiomarcagem da molécula DOTMP invés do tradicional EDTMP, baseia-se na necessidade de manter os níveis de massa do radiofármaco administrado tão baixo quanto possível, e tal não seria exequível se se utilizasse o EDTMP, pois seria necessário usar uma elevada massa de EDTMP para estabilizar o hólmio. Estudos futuros são necessários para determinar a eficiência deste radiofármaco, bem como quantidades e métodos de administração, contudo resultados da Fase I de ensaios clínicos, demonstram uma grande variedade da captação óssea que varia entre 16% até 54% da atividade administrado, sendo o restante maioritariamente (83%) excretado pelo sistema urinário num prazo de até 12 horas.⁸⁶ Estes resultados também demonstram uma acumulação significativa do radiofármaco na bexiga e rins, deixando neste caso a medula óssea de ser o órgão crítico.⁸⁷ Num outro ensaio clínico realizado no final dos anos 90, foi possível observar que com uma administração média de 1548 mCi de ^{166}Ho -DOTMP ocorria uma completa remissão das metástases ósseas, com uma toxicidade da medula óssea aceitável.⁸⁸

Também o ^{166}Ho -EDTMP, apesar do seu problema da necessidade de uma elevada massa de EDTMP para uma radiomarcagem bem sucedida, tem vindo a ser estudado em ratos como potencial agente terapêutico das metástases ósseas. Este radiofármaco apresenta uma biodistribuição favorável, com uma rápida captação pelo tecido ósseo (até 70% da atividade administrada) e uma rápida eliminação da circulação e dos restantes tecidos moles.⁸⁹

Em 2012 um novo composto, o ^{166}Ho -PDTMP, foi desenvolvido para terapia paliativa das metástases ósseas. Em ratos, o ^{166}Ho -PDTMP apresenta uma remoção da corrente sanguínea num período inferior a 48 horas, sendo maioritariamente acumulado no tecido ósseo ativo, e apresentado uma acumulação negligenciável nos tecidos moles.⁹⁰

4.3.7 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM TÚLIO-170 (^{170}Tm)

O ^{170}Tm desintegra-se, com concomitante emissão de partículas β^- , quer para um nível excitado intermédio de 84.25 keV (18.3%) com subsequente decaimento para o estado fundamental do elemento Itérbio-170 (Yb-170), quer diretamente para o estado fundamental do elemento Yb-170 (81%). Para além disso, o ^{170}Tm pode também decair por captura electrónica para um nível excitado intermédio de 78.6 keV (0.03%) com subsequente decaimento para o estado fundamental do Érbio-170 (Er-170) ou diretamente para o estado fundamental do Er-170 (0.12%). O ^{170}Tm apresenta uma semi-vida longa de 128.4 dias e uma energia total de emissão das partículas β^- , de captura electrónica e de emissão gama de 968 keV, 314.4 keV e 84 keV, respetivamente (Tabela 12). O ^{170}Tm é produzido por bombardeamento do Túlio-169 com neutrões ($^{169}\text{Tm}(n,\gamma)^{170}\text{Tm}$), ou do Érmio-170 com prótons ($^{170}\text{Er}(p,n)^{170}\text{Tm}$). Ambas os métodos de produção podem conduzir à co-eluição de impurezas, tais como o ^{168}Tm , no produto final.

Tabela 12. Sumário das principais características físicas dos principais decaimentos radioativos do ^{170}Tm .

Emissão	Energia Média (KeV)	Fração de decaimento (%)
CE-L _{1,0}	73.77-75.31	9.4
$\beta_{0,1}$	290.5	18.3
$\beta_{0,0}$	323.1	81.6
$\gamma_{1,0}$	82.254	2.51

Para uma biodistribuição adequada com captação preferencial pelo tecido ósseo, o ^{170}Tm necessita de estar associado ao EDTMP. Estudos de biodistribuição em ratos demonstram que, após administração de ^{170}Tm -EDTMP, 50-55% da atividade injetada se concentrava no tecido ósseo, sem acumulação significativa nos restantes órgãos vitais.⁵⁴ Em 2009, Das e colaboradores calcularam que as doses absorvidas após administração de ^{170}Tm -EDTMP rondavam os 4.3 Gy/MBq no osso e os 0.5 $\mu\text{Gy/MBq}$ pela medula óssea.⁵⁴

O uso de ^{170}Tm -EDTMP encontra-se ainda numa fase experimental pré-clínica, pelo que o seu potencial terapêutico em populações humanas requer estudos futuros.

4.3.8 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM LÚTECIO-177 (^{177}Lu)

O ^{177}Lu desintegra-se, com concomitante emissão de partículas β^- , para o estado fundamental e três estados excitados do Háfnio-177 (Hf-177). O ^{177}Lu apresenta uma semi-vida de 6.71 dias e emissões de partículas β^- com energias máximas de 497 keV (78.6%), 384 keV (9.1%) e 176 keV (12.2%) e penetração média de 0.3 mm. Para além disso aquando do seu decaimento, o ^{177}Lu emite radiação gama com energias de 113 keV (6.4%) e 204 keV (11%), adequadas para a aquisição de imagem (Tabela 13). O ^{177}Lu pode ser produzido tanto por enriquecimento do Lutécio-166, ($^{176}\text{Lu}(n,\gamma)^{177}\text{Lu}$) ou do ^{177}Yb ($^{176}\text{Yb}(n,\gamma)^{177}\text{Yb} \rightarrow ^{177}\text{Lu}$).^{39,91} Uma das grandes vantagens do ^{177}Lu em relação aos demais radioisótopos tipicamente utilizados em terapia paliativa das metástases ósseas é a capacidade de produção deste radioisótopo em larga escala.⁹¹

Para o ^{177}Lu apresentar uma biodistribuição ótima para o tratamento de metástases ósseas, este necessita de ser associado a uma molécula química com afinidade pelo tecido ósseo. Existem vários compostos químicos que podem ser radiomarcados com ^{177}Lu , destacando-se o DOTMP^{60,92}, o metildifosfato (MDP)⁹³, o pirofosfato de sódio (PYP)⁹⁴ e o EDTMP^{60,95-97}. Estes compostos apresentam acumulação no tecido ósseo ativo significativa, podendo atingindo os 70% da atividade injetada. A excreção destes radiofármacos é rápida, efetuando-se principalmente pela via urinária, e o seu uso está associado a uma reduzida toxicidade.

Tabela 13. Sumário das principais características físicas dos principais decaimentos radioativos do ^{177}Lu .

Emissão	Energia Média (KeV)	Fração de decaimento (%)
Auger-L	4.3-11.2	8.75
CE-L _{1,0}	101.67	6.84
$\beta_{0,3}$	47.66	11.64
$\beta_{0,1}$	111.7	9.1
$\beta_{0,0}$	149.4	79.3
$\gamma_{3,1}$	208.36	10.38

Em modelos animais, a administração de uma dada dose de ^{177}Lu -DOTMP resulta num menor nível de mielossupressão que aquele causado pela mesma dose de ^{153}Sm -EDTMP.⁹⁸ Estes resultados podem ser consequência das emissões menos energéticas do ^{177}Lu em comparação com as emissões do ^{153}Sm , dado que, a deposição da energia total das partículas β^- do ^{177}Lu ocorre num volume correspondente a uma esfera de diâmetro máximo de 5 mm.⁹⁵ A dose ótima para tratamento de metástases ósseas ainda necessita de ser estabelecida, mas os baixos níveis de mielossupressão sugerem que elevadas doses radioativas devem ser bem toleradas.

Em ensaios clínicos em humanos, o ^{177}Lu -EDTMP demonstrou ser um promissor agente terapêutico no contexto paliativo das metástases ósseas, apresentando uma adequada captação óssea, na ordem dos 70% da atividade administrada, bem como, uma rápida remoção da corrente sanguínea, sem acumulação significativa do composto nos tecidos moles e excreção maioritariamente por via do sistema urinário.⁹⁹ Com uma única dose de 1.3 até 3.7 GBq de ^{177}Lu -EDTMP é possível obter uma redução significativa da dor óssea, bem como o aumento da mobilidade, elevando a qualidade de vida do doente, sem que

com isso fique comprometido o sistema imunológico pois os níveis de toxicidade da medula óssea são muito reduzidos.^{100,101}

Um estudo comparativo entre o ^{177}Lu -DOTMP e ^{177}Lu -EDTMP demonstrou que, apesar de uma biodistribuição muito semelhante e propicia ao tratamento de metástases ósseas, o ^{177}Lu -DOTMP apresenta uma acumulação óssea marginalmente superior ao ^{177}Lu -EDTMP, porém o ^{177}Lu -EDTMP apresentam uma remoção mais rápida da corrente sanguínea é uma menor acumulação nos restantes tecidos moles.¹⁰²

Também os compostos ^{177}Lu -MDP e ^{177}Lu -PYP foram recentemente investigados como agentes terapêuticos em ratos. O composto MDP é recorrentemente utilizado para a cintigrafia óssea quando radiomarcado com Tecnécio-99m, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP, o que garante que a biodistribuição ^{177}Lu -MDP coincide com a desejada. De facto, em ratos, até cerca de 31% da atividade administrada de ^{177}Lu -MDP concentra-se no tecido ósseo.⁹³ O PYP é um análogo do MDP, pelo que é expectável que o ^{177}Lu -PYP tenha uma biodistribuição adequada ao tratamento paliativo de metástases ósseas, contudo ainda não foram publicados estudos biológicos com ^{177}Lu -PYP.⁹⁴

4.3.9 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM RÉNIO-186 (^{186}Re)

O ^{186}Re decai, com concomitante emissão de partículas β^- , para o estado fundamental e excitado a 137 keV do Ósmio-186 (92.5%) e por captura electrónica para o Tungsténio-186 (7.5%). O ^{186}Re tem uma semi-vida de 3.72 dias. A energia máxima das partículas β^- emitidas pelo ^{186}Re varia entre 0.58 MeV e 1.07 MeV.¹⁰³ Este radionuclídeo é um emissor β^- , cujas partículas emitidas possuem uma energia média de 0.349 MeV e uma penetração média nos tecidos de 1.1 mm (penetração máxima de 4.5 mm). Aquando do seu decaimento, o ^{186}Re também emite uma pequena componente de radiação gama (9%, 0.137 MeV), permitindo assim aquisição de imagem pós-administração do radiofármaco (Tabela 14). O ^{186}Re pode ser produzido tanto num reator nuclear ou num acelerador de partículas. No primeiro método, enriquece-se o ^{185}Re através da captura de neutrões, o que resulta na formação do complexo $^{186}\text{ReO}_4^-$. Porém o método de produção mais utilizado

devido à relação custo-qualidade é por via do acelerador nuclear. Neste caso o ^{186}Re é obtido pelo bombardeamento de prótons ao tungstênio natural (^{186}W).^{66,104}

Tabela 14: Sumário das principais características físicas dos principais decaimentos radioativos do ^{186}Re .

Emissão	Energia Média (KeV)	Fração de decaimento (%)
Auger-L	4.7-12.9	6.43
CE- $T_{1,0}$	63.3-137.11	12.15
$\beta_{0,1}$	306.7	21.5
$\beta_{0,0}$	359.6	70.9

Alguns compostos químicos têm sido radiomarcados com ^{186}Re de forma a produzir radiofármacos para terapia paliativa das metástases ósseas, nomeadamente o HEDP, também designado por etidronato e complexos conjugados de bifosfonatos (por exemplo, MAG3-HBP).

O ^{186}Re -HEDP adsorve quimicamente aos átomos de cálcio da hidroxiapatita. Este radiofármaco, à semelhança do ^{89}Sr , é retido de forma mais ávida no osso reativo em torno das lesões metastáticas do que no restante tecido ósseo, obtendo razão de tumor para a medula óssea de 20:1.¹⁰⁵ A média de captação do ^{186}Re -HEDP pelo tecido ósseo é de aproximadamente 55% da dose injetada, sendo o remanescente excretado predominantemente por via renal.¹⁰⁶ A dose de administração recomendada é de 1295 MBq (35 mCi), a dose máxima tolerada é de 2405 MBq (65 mCi) e é possível o re-tratamento após 2 meses da última administração de ^{186}Re -HEDP.¹⁰⁴ A resposta geral ao tratamento é de 55 até 85%, com um tempo de resposta até uma semana. Após este tratamento com ^{186}Re -HEDP ocorre um agravamento temporário da dor em 10% dos casos. Os pacientes apresentam após o tratamento uma trombocitopenia suave e reversível em 8 semanas.^{107,108}

Um estudo comparativo entre o $^{89}\text{SrCl}_2$ e o $^{186}\text{Re-HEDP}$ realizado em humanos reportou uma taxa de resposta de 84% e 92%, respectivamente. Nesse mesmo estudo também se verificou que a resposta ao tratamento surgia mais rapidamente no grupo de doentes tratados com $^{186}\text{Re-HEDP}$ que naqueles tratados com $^{89}\text{SrCl}_2$ e que a duração média de resposta após tratamento era de 107 dias e 125 dias para o $^{186}\text{Re-HEDP}$ e para o $^{89}\text{SrCl}_2$, respectivamente.¹⁰⁹

Estudos com $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ em ratos saudáveis demonstraram que este radiofármaco apresentava uma biodistribuição mais favorável que o $^{186}\text{Re-HEDP}$, pois o $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$ apresentava uma maior captação pelo tecido ósseo juntamente com uma remoção mais rápida da corrente sanguínea.¹¹⁰ Para além disso, verificou-se que a inibição do crescimento tumoral era significativamente superior quando se utilizava o $^{186}\text{Re-MAG3-HBP}$.¹¹⁰

4.3.10 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM RÉNIO-188 (^{188}Re)

Os primeiros estudos com o uso do ^{188}Re no contexto da terapia paliativa das metástases ósseas decorreram no início dos anos 90. O ^{188}Re decai, com concomitante emissão de partículas β^- , para diferentes estados do Ósmio-188 (71.1% do decaimento diretamente para o estado fundamental do Ósmio-188) (Tabela 15). O ^{188}Re apresenta uma semi-vida de 0.7 dias (16.98 horas), emissão de partículas β^- com uma energia máxima de 2.12 MeV e emissão de fótons gama de energia máxima de 155 keV (15%). Este radioisótopo apresenta uma penetração média e máxima de 3 e 10 mm, respectivamente, nos tecidos moles. O ^{188}Re é obtido a partir do gerador $^{188}\text{We}/^{188}\text{Re}$ e o seu potencial enquanto agente terapêutico tem vindo a ser demonstrado em varias aplicações terapêuticas na Medicina Nuclear, nomeadamente na oncologia e radiobiologia intervencional.^{66,103}

Tipicamente, o ^{188}Re é utilizado para a radiomarcagem de HEDP de forma a obter um radiofármaco com biodistribuição adequada ao tratamento paliativo de metástases ósseas.^{111,112} Para além disso, este radioisótopo também tem sido utilizado para a radiomarcagem de conjugados de bifosfonatos para o mesmo propósito terapêutico.¹¹³

Tabela 15. Sumário das principais características físicas dos principais decaimentos radioativos do ^{188}Re .

Emissão	Energia Média (KeV)	Fração de decaimento (%)
$\beta_{0,1}$	2120.4	71.1
$\beta_{0,0}$	1965.4	25.6
Fotões Gama	155	15

A dose recomendada de ^{188}Re -HEDP para terapia paliativa de metástases ósseas é de 1221 MBq (33 mCi), sendo que uma dose de 2960 MBq (80 mCi) é considerada a dose máxima tolerada devido aos efeitos secundários desta terapêutica na medula óssea. Após injeção intravenosa, o radiofármaco é removido da corrente sanguínea de forma rápida e 60% deste é excretado nas primeiras 48 horas, sendo o restante captado pelo tecido ósseo com uma acumulação 6 a 7 vezes superior no local da lesão comparativamente com o osso normal.¹⁰⁹ A taxa de resposta geral ao tratamento relatada é de aproximadamente 80%, havendo estudos em que chega a atingir 92%, com uma duração média de resposta que ultrapassa os 5 meses, variando entre 2 até 12 meses.^{23,111} A toxicidade resultante do tratamento com a dose recomendada é mínima, podendo haver, contudo, risco de trombocitopenia. Nos doentes com cancro da próstata, após 3 a 6 meses de tratamento com ^{188}Re -HEDP, verifica-se um decréscimo nos valores do biomarcador PSA.²³

O complexo ^{188}Re -DPA-alendronate for recentemente proposto como alternativa ao ^{188}Re -HEDP, pois este complexo apresenta maior estabilidade *in vivo* e uma biodistribuição mais favorável em estudos pré-clínicos, isto é, maior captação pelo tecido ósseo lesado e uma acumulação menor nos restantes tecidos moles.¹¹³

4.3.11 RADIOFÁRMACOS MARCADOS COM RÁDIO-223 (^{223}Ra)

O ^{223}Ra decai maioritariamente, com concomitante emissão de partículas α , para níveis excitados de diferentes isótopos, até atingir o estado estável do Chumbo-207. O ^{223}Ra apresenta uma semi-vida de 11.43 dias e emite partículas α com

energias médias de 5.78 MeV (energia total de decaimento de 27.78 MeV) (Tabela 16). O poder de penetração das partículas α do ^{223}Ra atinge no máximo 0.1 mm (correspondente a cerca 2-10 células). O ^{223}Ra pode ser produzido a partir do gerador $^{227}\text{Ac}/^{227}\text{Th}$ ou pela fissão do Urânio-235 (^{235}U).^{62,114–116}

Tabela 16. Sumário das características físicas dos principais decaimentos radioativos do ^{223}Ra .

Emissão	Energia Média (KeV)	Fração de decaimento (%)
$\alpha_{0,6}$	5539.43	10.6
$\alpha_{0,5}$	5606.95	25.8
$\alpha_{0,4}$	5715.81	45.6
$\alpha_{0,3}$	5747.14	10.0
Auger-L	5.66-17.95	30.1
CE- $T_{4,2}$	51.5-54.9	15.42
CE- $K_{4,1}$	55.81	18.0
CE- $T_{4,1}$	55.81-154.165	22.4
CE- $T_{5,0}$	171.06-269.42	11.23

O radiofármaco dicloreto de ^{223}Ra ($^{223}\text{RaCl}_2$) concentra-se na superfície do osso, possuindo uma razão tumor:medula óssea de 30:1. A remoção de $^{223}\text{RaCl}_2$ da corrente sanguínea é rápida e este radiofármaco é principalmente excretado através das fezes.⁶¹ O pico de captação óssea ocorre cerca de 1 hora após injeção, sem subsequente redistribuição dos isótopos-filhos. O ^{223}Ra demonstra ter um perfil adequado para injeção em humanos, sendo que a administração de $^{223}\text{RaCl}_2$ resulta em melhorias tanto no alívio da dor como na redução dos biomarcadores associados a tumores (queda superior à 50% nos marcadores associados a formação óssea e

65% nos marcadores associados a reabsorção óssea). O uso de $^{223}\text{RaCl}_2$ em estudos clínicos demonstrou um aumento da esperança média de vida dos doentes com cancro em cerca de 3.6 meses.^{38,117} A dose de ^{223}Ra recomendada para administração a humanos é de 50 kBq/kg. A resposta geral ao tratamento com $^{223}\text{RaCl}_2$ é de aproximadamente 77% dos casos, sendo que esta resposta terapêutica dura até 2 meses após a administração de $^{223}\text{RaCl}_2$.¹¹⁸ Para além disso, a administração de $^{223}\text{RaCl}_2$ induz um nível baixo de mielosupressão. Ao contrário do que se observa com radioisótopos emissores de partículas β^- , a administração de radiofármacos marcados com ^{223}Ra afeta mais a contagem do número de neutrófilos do que do número das plaquetas.¹¹⁹ A administração de $^{223}\text{RaCl}_2$ pode resultar no aparecimento dos seguintes efeitos secundários: diarreia (40% dos doentes), náuseas (25% dos doentes), fadiga (25% dos doentes) e um aumento temporário da dor (36% dos doentes).⁶¹ O $^{223}\text{RaCl}_2$ é o único radiofármaco reportado até à data que apresenta uma melhoria da esperança média de vida dos doentes oncológicos tratados.^{61,117,120,121} Porém ainda não foram determinados os efeitos biológicos a longo termo do tratamento com ^{223}Ra , dado que os doentes avaliados nos ensaios clínicos reportados até à data têm normalmente uma esperança de vida muito curta e os estudos clínicos realizados são ainda muito recentes.

4.4 PRINCIPAIS EVIDÊNCIAS CLÍNICAS DO USO DE RADIOFÁRMACOS PARA TERAPIA PALIATIVA DAS METASTASES ÓSSEAS

Em geral, o benefício (grau de efeito paliativo) médio para todos os radiofármacos atualmente em uso clínico ronda os 75%, sendo que tipicamente 25% dos doentes que são submetidos a esta terapêutica tem uma resposta completa, isto é, ausência de dor após tratamento. Na Tabela 17, estão sumariadas as respostas terapêuticas de cada radiofármaco publicadas até à data. A resposta geral à terapia paliativa com radiofármacos varia entre os 45% e os 92% e a resposta completa entre os 10% e os 30%. Também é apresentado nessa tabela-resumo o tempo de resposta ao tratamento e a duração dessa mesma resposta.

De uma forma geral, não se observam diferenças muito significativas entre os diversos radiofármacos atualmente em uso no tratamento paliativo das metástases ósseas no que toca à capacidade de redução da dor óssea, isto é, na resposta geral à terapêutica. Verifica-se ainda que, tipicamente, a curva da dose-resposta obtida aquando do tratamento paliativo das metástases ósseas com recurso a radiofármacos é estável a partir de um determinado limiar de dose, o qual corresponde a um nível a partir do qual não existe um aumento da resposta.⁶⁵ Para além disso, estudos anteriormente realizados indicam que não existem diferenças estatisticamente significativas entre o ⁸⁹Sr, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re e o ¹⁵³Sm, que são emissores de partículas β^- , no que toca à resposta geral ao tratamento.^{56,58,105,107}

Quando falamos dos custos dos tratamentos, notamos que muito pouca informação se encontra disponível relativamente a avaliações de eficiência dos radiofármacos em função do seu custo para o tratamento de metástases ósseas. A maioria das publicações são relativas à minimização de custos de uma certa técnica ou radiofármaco. Uma análise de eficiência-custo adequada aparenta ser de extrema dificuldade de realizar, devido a uma vasta gama de variáveis relacionadas com o custo da terapia (tecnologia, preparação, administração, monitorização, ...), custo do tratamento dos efeitos secundários e custo de armazenamento.

O bombardeamento do núcleo alvo num reator ou acelerador nuclear é de longe a via mais comum para a produção de radioisótopos com utilidade clínica. Uma característica que permite que os custos de produção com recurso a um reator nuclear sejam relativamente baixos é a produção dos diferentes radionuclídeos para tratamento de metástases ósseas num reator com um fluxo relativamente reduzido, pois estes radionuclídeos não necessitam de uma elevada atividade específica ao contrario daqueles utilizado na radiomarcagem de peptídeos e de anticorpos. No caso dos radionuclídeos acoplados a diferentes fosfatos a sua atividade específica só tem importância aquando da necessidade da distribuição a longas distancias, de forma a minimizar as perdas do radiofármaco. Deste modo compreende-se o interesse por parte da comunidade científica no ¹⁷⁷Lu, dado que este radioisótopo pode ser produzido com uma elevada atividade específica, permitindo uma radiomarcagem tanto com os diferentes fosfatos como com anticorpos ou mesmo segmentos peptídeos, num reator com um fluxo baixo ou moderado.¹²²

Hoje em dia o mercado da Medicina Nuclear ultrapassa os vários milhões de euros, em que 90% do mercado correspondo aos gastos associados a intervenções de diagnóstico e os restantes 10% a intervenções terapêuticas. É estimado que a descoberta de formas mais eficientes de produção dos diferentes radiofármacos bem como metodologias de administração mais eficientes possam corresponder a redução de gastos na ordem de 1 milhão de euros.¹²³

Tabela 17. Sumário dos resultados clínicos dos tratamentos paliativos das metástases ósseas com diferentes radiofármacos.^{7,64,65,118}

Caraterística	³² P-ortofosfato	⁸⁹ SrCl ₂	⁹⁰ Y-EDTMP	^{117m} Sn-DTPA	¹⁵³ Sm-EDTMP	¹⁶⁶ Ho-DOTMP	¹⁷⁰ Tm-EDTMP	¹⁷⁷ Lu-DOTMP	¹⁸⁶ Re-HEDP	¹⁸⁸ Re-HEDP	²²³ RaCl ₂
% acumulação óssea	85%	55%	45-50%	77%	65%	16-54%	50-55%	70%	55%	30%	41%
Principal via de excreção	Renal	Renal	Renal	Renal	Renal	Renal	Renal	Renal	Renal	Renal	Fecal
Resposta geral à terapia	50-87%	65-90%	*	60-83%	55-83%	*	*	*	55-85%	64-77%	58-75%
Resposta completa	20%	5-20%	*	30%	Variável	*	*	*	20%	22-26%	Variável
Tempo de resposta (dias)	5-14	14-30	*	14-30	7-30	*	*	*	2-7	2-7	14
Duração da resposta	2-7 meses	3-6 meses	*	4-5 meses	2-3 meses	*	*	*	2-4 meses	3-6 meses	2-3 meses
Intervalo tempo Retratamento	3 meses	3 meses	*	2 meses	2 meses	*	*	*	2 meses	2 meses	1 mês
Efeitos secundários	Significativos	Significativos	*	Suaves	Moderados	Moderados	*	Ligeiros	Ligeiros	Ligeiros	Moderados

Legenda: * - Sem dados publicados

Nota: Os valores dos radiofármacos ⁹⁰Y-EDTMP e ¹⁷⁰Tm-EDTMP são provenientes de ensaios pré-clínicos.

4.5 SUMÁRIO

A terapia com radiofármacos com alta afinidade pelo tecido ósseo é uma das intervenções terapêuticas utilizada como um método efetivo no tratamento paliativo de metástases ósseas. Atualmente são comercializados 5 radiofármacos para fins terapêuticos no contexto das metástases ósseas, sendo eles o ^{32}P -ortofoafato, o $^{89}\text{SrCl}_2$, o $^{153}\text{Sm-EDMP}$, o $^{223}\text{RaCl}_2$ e o $^{186}\text{Re-HEDP}$. Muitos outros agentes terapêuticos encontram-se em ensaios clínicos ou em fases de estudo pré-clínico, nomeadamente radiofármacos marcados com $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{170}Tm , ^{177}Lu ou ^{188}Re .

A utilidade do radiofármaco para terapia é ditada pelas características físicas do radioisótopo, nomeadamente, modo de decaimento, energia, tempo de semi-vida e poder de penetração; bem como pelas propriedades químicas da molécula a este associada (se aplicável), pois esta determina a biodistribuição do radiofármaco *in vivo* e por último a capacidade funcional da medula óssea do paciente, pois este é frequentemente o órgão crítico no tratamento. Atualmente estão disponíveis para uso clínico ou em investigação uma grande diversidade de radiofármacos com energias de emissão a variar entre 0.127 MeV do $^{117\text{m}}\text{Sn}$ até 5.78 MeV do ^{223}Ra e um tempo de semi-vida que varia desde 0.7 dias do ^{188}Re até 128.6 dias com o ^{170}Tm . Neste capítulo foram apresentados os diferentes radioisótopos com potencial terapêutico no contexto de metástases ósseas, bem como as suas características físicas e métodos de produção. Também neste capítulo foram apresentados os principais resultados de estudos clínicos e pré-clínicos realizados com os radiofármacos mais importantes na área de tratamento paliativo das metástases ósseas.

Apesar do interesse crescente e o aumento do número de publicações existentes sobre a terapia paliativas das metástases ósseas, não existe consenso na escolha do radiofarmaco a utilizar neste contexto, sendo que estes são escolhidos em função da sua acessibilidade ou disponibilidade e não da sua eficiência, uma vez que não existem estudos comparativos de todos os radiofármacos sob as mesmas condições. Assim, o objetivo desta Dissertação é contribuir para um maior conhecimento nesta área, com recurso a simuladores computacionais.

Capítulo 5

SIMULADORES EM RADIOBIOLOGIA

5.1 INTRODUÇÃO

Um passo essencial no estudo da eficiência da terapia com radiofármacos é a análise dos efeitos provocados pelas partículas emitidas pelos radioisótopos no material biológico, nomeadamente no ADN e nas células. Uma forma simples e rápida de realizar tais estudos é através do recurso a simuladores computacionais que utilizam o código Monte Carlo para descrever o transporte e a interação da energia com um meio, tendo por base diversos parâmetros extrapolados de ensaios *in vitro* e *in vivo*.

Esta Dissertação visa avaliar e caracterizar, por métodos computacionais, os efeitos radiobiológicos induzidos pela irradiação de ADN e células com diferentes radioisótopos atualmente em uso clínico ou sob investigação para terapia paliativa das metástases ósseas. Para tal, foram escolhidos os seguintes simuladores: simulador Monte Carlo de danos do ADN (MCDS, *Monte Carlo Damage Simulator*), simulador Monte Carlo de reparação de danos do ADN (MCER, *Monte Carlo Excision Repair*) e simulador da resposta celular à radiação (VC, *Virtual Cell*).

Neste capítulo descrevem-se os princípios gerais de funcionamento dos diferentes simuladores utilizados na presente Dissertação, bem como as vantagens e desvantagens do uso de simuladores para estudos radiobiológicos.

5.2 SIMULADORES

Os simuladores computacionais de radiobiologia celular são, desde há muito tempo, uma fonte útil de informação sobre o potencial efeito terapêutico de diferentes agentes irradiantes, entre eles, os radioisótopos utilizados em terapia paliativa das metástases ósseas, sendo de crucial importância no campo da radioterapia molecular e planificação de tratamentos com recurso à radiação.¹²⁴

Um dos primeiros simuladores desenvolvido para o estudo dos efeitos da radiação foi o simulador Monte Carlo. O método Monte Carlo é um conjunto de técnicas estocásticas baseadas em números aleatórios e probabilidades estatísticas que é utilizado para investigar problemas científicos. O seu uso possibilita analisar sistemas complexos, como aqueles aplicados ao estudo da radiobiologia celular, que de outro modo não seriam possíveis de estudar. Com o método Monte Carlo um

sistema complexo pode ser amostrado em números de configurações aleatórias e a informação recolhida pode ser utilizada para descrever o sistema como um todo.³

Como referido, os métodos computacionais Monte Carlo possibilitam o estudo das interações entre a radiação e a matéria de uma forma conveniente.¹²⁴ Porém, o seu uso acarreta algumas desvantagens, entre as quais a sua exigência computacional. Nessa perspetiva, o algoritmo Monte Carlo escolhido para a realização desta dissertação, o MCDS, embora menos complexo e detalhado que o algoritmo Monte Carlo convencional, apresenta uma boa correlação para a maioria dos espectros de danos radioinduzidos do ADN, o que sugere que a distribuição espacial de danos elementares do ADN é determinada primariamente por eventos independentes estocásticos. A sua rapidez face ao Monte Carlo convencional, em termos de processamento de informação, possibilita a simulação de um cenário de 100000 células a 1 Gy de radiação em 1.5 minutos num Intel Pentium III Xeon a 2.4 GHz, necessitando de uma memória de 1.3 Megabytes.¹²⁵ Contrariamente a este simulador MCDS, o algoritmo Monte Carlo CELDOSE, por exemplo, necessita de algumas horas num Pentium 4-EM64T a 3 GHz com 1 Gb de memória RAM para avaliar os efeitos da radiação em esferas de água isoladas. Também o simulador de radiobiologia utilizado nesta tese (VC – Virtual Cell) fornece informações sobre sobrevivência celular, probabilidade de controlo tumoral, indução de mutagenese, entre outros, em apenas alguns minutos. Existem outros métodos baseados em código Monte Carlo para o estudo dos efeitos da radiação no ADN, como o GEANT4-DNA e o PENELOPE (PENetration and Energy LOSS of Positrons and Electrons), contudo esses métodos encontram-se fora do âmbito desta Dissertação.

5.3 VANTAGENS E DESVANTAGENS DO USO DE SIMULADORES

Uma das principais vantagens do uso de simuladores assenta sobre a sua versatilidade e capacidade de em intervalos de tempo reduzidos, entre alguns segundos e poucos minutos, obter informação que de qualquer outro modo demoraria longos períodos de tempo e exigiriam grande disponibilidade de recursos e capacidades. Por exemplo, as culturas de células, de grande utilidade, possibilitam

o conhecimento do comportamento e função de uma população isolada de células, bem como, o estudo de fenómenos impossíveis de produzir em tecidos intatos, contudo possuem também várias características desvantajosas e limitantes, entre as quais se realçam: gastos elevados em material; dependência das condições de crescimento da cultura; instabilidade da cultura celular e perda de características de fenótipo.

Em relação às culturas de células, os simuladores computacionais possuem algumas vantagens. Por exemplo, dado que os simuladores permitirem obter informação de uma forma mais rápida e flexível, estes possibilitam a cobertura de múltiplos parâmetros do cenário de irradiação em causa num curto espaço de tempo, pois não existem as limitações impostas pela cinética das culturas, isto é, instabilidade e risco de contaminação, que inviabiliza a utilização dos resultados e força os investigadores a repetir todo o processo. Para além disso, o custo associado à simulação do processo é largamente inferior ao associado ao uso de culturas celulares, existindo mesmo simuladores para investigação na área de domínio público.

Apesar das vantagens associadas ao uso de simuladores referidas acima, algumas desvantagens associadas ao seu uso também têm sido identificadas, tais como avaliações estimadas em resultados experimentais prévios e conhecimentos atuais ou por interpolação destes dados, que pode não ser efetivamente verdadeiro no organismo vivo, e a modelização da cinética celular de forma mecanista, que pode subvalorizar ou sobrevalorizar certos parâmetros e resultados. Por último os simuladores são limitados a uma gama de entradas de cada parâmetro que nem sempre cobre todos os valores necessários para os diversos estudos.

5.4 PRINCÍPIOS DO MCDS

Informação detalhada sobre o espectro de possíveis configurações de danos induzidos pela radiação ionizante no ADN é frequentemente obtida pelo uso de simuladores de trilhos estruturais Monte Carlo em combinação com modelos geométricos do ADN e da cromatina. Nos modelos de trilhos estruturais, as radiações de baixa LET conduzem à formação de aproximadamente 1000 quebras

simples (SSB) e 40 quebras duplas (DSB) por Gray (Gy) numa célula de mamífero típica. O nível de danos provocados nas bases é estimado em 2500 para 25000/Gy/célula e, para além dos danos isolados, a radiação ionizante tem a capacidade de produzir também múltiplos locais de danos (MDS, *Multiply Damage Sites*), que consistem em dois ou mais danos elementares num curto espaço de hélices enroladas em torno do ADN.¹²⁵ Nikjoo e colaboradores, em 1998, definiram dois métodos alternativos de classificação de quebras nas cadeias de ADN.¹⁹ Esses esquemas de classificação consideravam que: (1) os padrões de quebras de acordo com a complexidade do dano (simples, duplo e combinações) numa ou ambas as cadeias de ADN; e (2) classificação das quebras como resultado direto ou indireto da radiação (devido a radicais livres). As classificações propostas por Nikjoo e colaboradores estão esquematicamente representadas na Figura 12 e na Tabela 18.^{13,19} As DSB e outras classes de MDS são, geralmente, as causas primárias de indução de apoptose por radiação ou mutagénese.

O simulador de danos Monte Carlo MCDS é um método simples e rápido para a produção do espectro de danos no ADN que apresenta apenas quatro parâmetros ajustáveis, dois dos quais podem ser restringidos a um intervalo de valores razoáveis com base em resultados experimentais.¹²⁵ Estes quatro parâmetros são: número de quebras/Gy/célula (σ_{Sb}), número de danos a bases do ADN/Gy/célula (σ_{Bd}), comprimento do segmento de ADN medido em pares de bases (bp)/Gy/célula (n_{seg}) e comprimento mínimo de ADN não danificado entre danos elementares entre segmentos vizinhos medido em pares de bases (N_{min}).

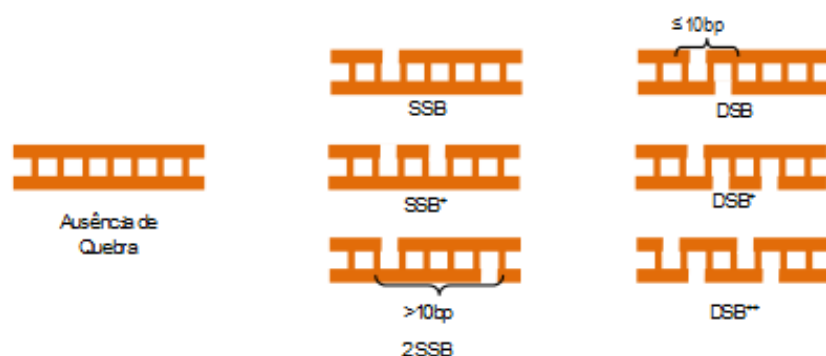


Figura 12: Esquema de classificação de danos do ADN segundo Nikjoo e colaboradores (1998).¹³

Tabela 18. Classificação das diferentes quebras do ADN segundo Nikjoo e colaboradores (1998).¹⁹

Fase	Evento
Ausência de quebra	Nem a deposição energética por efeito direto, nem a deposição devido a radicais livres conduz à formação de quebras no ADN
SSB	Quebra simples do ADN
SSB+	Duas quebras simples na mesma cadeia de ADN
2SSB	Duas ou mais quebras simples em cadeias opostas separadas por >10 Pb
DSB	Duas quebras simples opostas e separadas por ≤ 10 Pb
DSB+	Uma quebra dupla acompanhada por uma ou mais quebras simples separadas por < 10 Pb
DSB++	Mais de uma quebra dupla no segmento de ADN separadas por >10 Pb

O algoritmo do simulador MCDS processa-se em duas fases principais (Figura 13): (1) distribuição aleatória no segmento de ADN (parâmetro n_{seg}) do número esperado de danos elementares produzidos numa célula por uma determinada quantidade e qualidade de radiação; e (2) subdivisão da distribuição de danos elementares no segmento em lesões, sendo aqui determinante o parâmetro N_{min} .

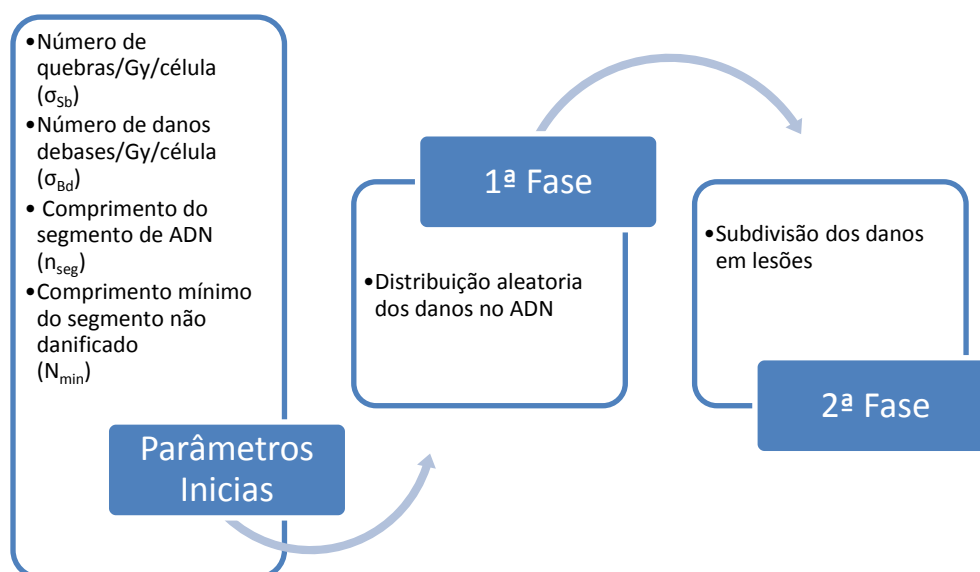


Figura 13: Representação esquemática das principais fases do simulador MCDS.³

O algoritmo do simulador MCDS é descrito abaixo.

A primeira fase, distribuição aleatória dos danos do ADN, é composta por 5 passos:^{125,126}

1. Computação dos parâmetros para uma dose absorvida específica D (Gy).

O comprimento do segmento por célula é dado por:

$$N_{seg} = gn_{seg}D;$$

E o número total de quebras por célula é dado por:

$$\Sigma_{sb} = g\sigma_{sb}D.$$

Sendo g um fator de escala adimensional que pode ser utilizado para ajustar o rendimento absoluto das lesões de ADN para melhor mimetizar as observações experimentais para cada tipo de célula. Quando o tipo de célula é desconhecido, o valor de g deve ser unitário. Este valor para células eucarióticas pode ser aproximado a razão entre o conteúdo de ADN da célula em estudo com o conteúdo da célula de mamíferos (6×10^9 pares de bases).

O número de danos de base/célula pode ser calculado através do número de quebras por célula pela equação:

$$\Sigma_{Bd} = f \Sigma_{sb}.$$

2. Seleção aleatória de um par de nucleótidos a partir do segmento de ADN, ou seja, seleção de um integral distribuído de forma uniforme no intervalo $[1, N_{seg}]$.
3. Seleção aleatória da cadeia de ADN (cadeia 1 ou 2). Caso o nucleótido selecionado não seja danificado, procede-se ao registo da quebra na localização, caso contrário retorna-se ao passo 2.
4. Criação de um relógio

$$\Sigma_{sb} = \Sigma_{sb} - 1;$$

Se $\Sigma_{sb} > 0$, retornar ao passo 2.

5. Repetição dos passos 2 a 5 para os danos nas bases.

Na segunda fase do algoritmo, subdivisão dos danos em lesões, N_{\min} é o parâmetro que determina a forma de agrupamento dos danos elementares em lesões, segundo a propriedade de que danos separados por pelo menos N_{\min} pares de bases são tratados como lesões diferentes.

O algoritmo da segunda fase é descrito nos seguintes quatro passos:

1. Iniciar a contagem no fim o segmento de ADN e localizar o primeiro dano elementar em cada uma das cadeias de ADN ou em ambas. Iniciar a lesão do ADN aquando da localização do dano elementar ou dos diversos danos elementares.
2. Começando no par de base após o último dano elementar identificado, proceder à movimentação ao longo do segmento de ADN na mesma direção e contar o número de pares de bases não danificadas antes do próximo dano elementar detetado. Caso o fim do segmento seja atingido antes de se encontrar outro dano elementar, considerar a lesão do ADN na localização do último dano detetado e finalizar o processo.
3. Caso o número de pares de base não danificadas for $\geq N_{\min}$ registar o fim da posição da lesão na última localização de dano elementar detetado. De seguida registar a posição de início da próxima lesão na localização do último dano elementar desta.
4. Retornar o passo 2.

Uma vez concluído o processo de agrupamento dos danos elementares do ADN em lesões, estas podem ser analisadas em termos de natureza de distribuição espacial dos danos elementares que as formam.¹²⁵

Num estudo realizado por Semenکو e Stewart em 2004 onde se compara o desempenho deste simulador com outros simuladores ditos *gold standard*, verifica-se que os resultados obtidos pelo uso do MCDS são muito semelhantes aos outros simuladores em todas as gamas de radiações utilizadas, tornando este simulador muito útil devido a sua simplicidade e rapidez a juntar a sua eficiência nos resultados (exemplo de resultados obtidos com MCDS e comparação com valores teóricos apresentados na Tabela 19).

Tabela 19. Comparação de resultados obtidos com o MCDS com os valores teóricos esperados para diferentes espectros de danos.¹²⁵

Lesão	Eletrões 4.5 KeV		Fotões 0.3 MeV		Partículas α 2.0 MeV	
	Valor Teórico	MCDS	Valor Teórico	MCDS	Valor Teórico	MCDS
SSB ($\text{Gy}^{-1} \text{ célula}^{-1}$)	741.0	742.2	858.0	879.0	663.0	675.8
DSB ($\text{Gy}^{-1} \text{ célula}^{-1}$)	46.8	45.9	136.5	130.6	156.0	158.5
SSB (%)	24.1	29.9	26.5	32.9	23.0	32.9
SSB+ (%)	2.3	1.8	7.1	5.2	7.0	8.2
2 SSB (%)	0.3	0.2	1.5	1.7	2.0	3.6
DSB (%)	1.5	1.6	4.8	3.5	4.8	4.6
DSB+ (%)	0.5	0.3	3.6	1.6	6.2	3.0
DSB++ (%)	0.04	0.05	1.3	0.8	5.7	2.8
SSBc (%)	9	6	24	17	28	26
SSBcb (%)	37	49	70	75	75	85
DSBc (%)	29	17	51	40	73	56
DSBcb (%)	62	62	90	87	96	94

5.4.1 INFORMAÇÃO DE ENTRADA E SAÍDA

O simulador MCDS consiste num algoritmo simplificado do código Monte Carlo re-parametrizado de forma a fornecer informação (*outputs*) sobre o rendimento das lesões no ADN (DSB, SSB e locais de múltiplos danos de bases) após simulação com eletrões, prótons e partículas alfa de diferentes radioisótopos. Os ficheiros de saída fornecem informação sobre as características de várias classes de danos do ADN, incluindo o número médio de lesões por conjunto de danos do ADN e comprimento médio do conjunto de danos em pares de bases (bp). Para a realização da simulação basta introduzir na linha de comando: MCDS {nome do ficheiro de input}.inp. Esta linha inicia de imediato o simulador e cria o ficheiro de output, que à semelhança do ficheiro de input é um ficheiro de texto em formato ASCII.

O ficheiro de *input* do simulador inclui os seguintes parâmetros:

- **SEED:** gerador aleatório de números, inteiro entre 1 e 2147483646. Quando um valor é negativo ou nulo é atribuído a este parâmetro, a semente será determinada pelo sistema relógio.
- **NUMBER OF CELLS:** Todos os resultados produzidos pelo simulador serão reportados como valores médios e desvio padrão, pelo que, este parâmetro especifica o número de ensaios corridos pelo simulador para o cálculo dos valores.
- **PARTICLE:** Símbolo de partículas radioativas carregadas, por exemplo, *e* para eletrões, *1H* para protões e *4He* para partículas alfa.
- **PARTICLE ENERGY:** Energia da partícula expressa em MeV. O valor mínimo para a simulação é de 0.00008 MeV para eletrões, 0.105 MeV para protões e 2 MeV para partículas alfa.
- **FRACTION BL/BD:** Este parâmetro especifica a fração de locais de perda de pares de bases no número total de bases danificadas. Na ausência desta informação, o valor por defeito é 0.
- **DMSO SIMULATION PARAMETERS:** O simulador tem como modelo opcional a simulação da presença de moléculas endógenas capturadoras de radicais livres (*scavengers*), pela especificação da quantidade de DMSO. Para simular um ambiente celular normal, este parâmetro deve tomar o valor 0, fazendo com que os outros dois valores deste parâmetro não apresentem impacto sobre os resultados da simulação.

Por seu lado, o ficheiro de *output* fornece informações sobre:

- **Tempo de execução:** Tempo necessário para terminar a simulação em minutos.
- **Resumo da informação de *input*:**
 - Tipo de radiação, energia cinética da radiação em estudo versus energia cinética mínima para simulação, energia da massa da partícula em repouso expressa em MeV e velocidade da partícula em estudo em relação à velocidade da luz.

- Parâmetros de informação de danos e conjuntos de danos usados pelo simulador MCDS, o que inclui: n_{seg} (este parâmetro aumenta com o aumento da energia das partículas), σ_{St} , σ_{Bd} , f , N_{min} (geralmente atribui-se o valor 9, sendo o máximo de distancia entre duas quebras para que sejam consideradas DSB de 10 pares de bases).
- Cópia dos dados de *input* para simulação com DMSO.
- **Resultados da simulação:**
 - Rendimento de danos agrupados de acordo com o esquema de classificação de Nikjoo e colaboradores (ver secção 5.4), expresso em percentagem.^{13,19}
 - Rendimento das diferentes classes de danos (DSB, SSB e múltiplos locais de danos de bases) por Gy por célula.
 - Composição do conjunto de lesões, isto é, percentagem de quebras das hélices do ADN ou danos a bases.
 - Comprimento da lesão expressa em pares de bases (bp) para diferentes classes de danos.
 - Número de lesões por comprimento de lesões.

5.5 PRINCÍPIOS DO MCER

Grupos de vários nucleótidos danificados numa ou em ambas as hélices de ADN, frequentemente denominados danos múltiplos (*clustered damages*), são característicos da radiação ionizante. Por outro lado, os processos endógenos produzem lesões isoladas, retirando as células com processos de reparação de ADN deficientes, nas quais danos múltiplos podem ser observados. Os danos múltiplos são potencialmente mais difíceis de reparar, pois as enzimas de reparação podem nem sempre possuir o molde correto para a reparação dos nuclédeos danificados.

O simulador MCER simula a formação e reparação de danos no ADN, com exceção das DSB, em células de mamíferos após exposição à radiação ionizante. Este simulador utiliza os dados de saída do MCDS, o qual é responsável pela formação de danos no ADN. As simulações no MCER fornecem informação sobre: o rendimento

de DSB radioinduzidas, SSB e locais de danos de base; a probabilidade de reparação por excisão correta, mutada ou evolução para DSB enzimática; e número de ciclos de reparação necessários para remover danos múltiplos do ADN.

Os doze passos essenciais do modelo MCER incluem:^{127,128}

- 1. Criação de um segmento danificado:** realizado pelo simulador MCDS.
- 2. Seleção do dano múltiplo:** por forma a seleccionar o dano múltiplo para reparação, o simulador MCER percorre todo o segmento de ADN até encontrar um dano simples ou múltiplo usando a metodologia descrita no simulador MCDS.
- 3. DSB radioinduzidas:** estas DSB, ao contrário das DSB enzimáticas, que são formadas durante os processos de reparação do ADN, são induzidas diretamente pela radiação. A contagem destas DSB segue o mesmo processo do algoritmo MCDS, contudo, quando um dano múltiplo detetado não é classificado como DSB o processo de reparação por excisão é iniciado.
- 4. Seleção da lesão de entre as lesões múltiplas:** o processo de reparação por excisão inicia-se pela seleção da lesão alvo para remoção. O processo de seleção decorre em duas etapas: (1) uma das cadeias de ADN é selecionada e (2) uma lesão é selecionada dentro da cadeia em estudo. A seleção da cadeia de ADN é ditada pela probabilidade P_1 , sendo que, $P_1=0.5$ ambas as cadeias têm a mesma probabilidade de serem selecionadas e quando este valor se aproxima do 0 ou 1, todas as lesões na cadeia selecionada são preferencialmente removidas antes das lesões na cadeia oposta serem reparadas. Esta escolha preferencial relaciona-se com informações obtidas em estudos prévios. A seleção da lesão dentro da cadeia, quando lesões múltiplas estão em estudo é feita de forma aleatória.
- 5. Seleção do processo de reparação:** uma vez selecionado o nucleótido para remoção, a via responsável pela remoção da lesão é determinada. A contribuição relativa de cada via de reparação para o processo global de remoção de danos é determinada por 3

probabilidades: probabilidade de SP-BER (P_{SP}), probabilidade de LP-BER (P_{LP}), probabilidade de NER (P_{NER}), cuja soma é 1.

6. **Seleção do tipo de substituição:** a substituição SP-BER é caracterizada pela substituição de um único nucleótido danificado. Para o tipo LP-BER e NER, os quais envolvem a remoção de mais do que um nucleótido, a simulação da excisão do dano e a nova síntese de ADN é repetida para cada nucleótido ao longo do comprimento do segmento a reparar.
7. **Tipo de lesão:** quando a lesão a remover é uma quebra do ADN, a iniciação da incisão do ADN (passo 8) não pode ocorrer, bem como a criação de DBS enzimáticas (passo 9), assim, nestes casos, avança-se para o passo 10, ou seja, a nova síntese de ADN. Por outro lado, se a lesão detetada para remoção é uma base danificada ou local AP, então segue-se para o passo 8.
8. **Inibição da incisão de ADN:** estudos recentes demonstram que a reparação BER de duas lesões espacialmente próximas na mesma ou cadeias opostas. O efeito inibitório é ainda mais pronunciado quando a lesão oposta é uma quebra ou um local AP. Este fenómeno é simulado pelo MCER pela especificação da distância de inibição (N_{inh} , em bp), com base no estudo de 2001 realizado por Blaisdell e colaboradores o MCER apresenta uma $N_{inh}=3$.
9. **DSB enzimáticas:** em alguns tipos de configurações de danos, uma quebra de ADN não reparada pode apresentar uma base danificada oposta ou um local AP que tenha sido marcado para remoção. Se, durante o processo de remoção destes dois tipos de lesões, um excerto de ADN é inserido no espaço danificado perto de uma quebra de ADN existente na cadeia oposta, uma DSB enzimática ocorrerá. Em suma, a reparação de quebras pode conduzir a dois resultados independentes: reparação correta (sem substituição de bases) e reparação com substituição de pelo menos uma base (mutação). Por seu lado, o processo de excisão de reparação de uma base danificada

e local AP pode resultar em 3 possíveis destinos: reparação correta, reparação com mutação e formação de um DSB enzimática.

10. Substituição de bases: atualmente, o modelo MCER não considera a formação de mutações por inserção ou deleção. O modelo MCER possibilita, no entanto, a avaliação da inserção não complementar de um nucleótido oposto a uma cadeia não danificada pela polimerase ADN. As taxas de erro das polimerases são extremamente baixas e podem variar ordens de magnitude (10^{-4} - 10^{-7} por cada deoxinucleótido incorporado), dependendo das características da polimerase em causa. A polimerase β é a principal responsável pela reparação via SP-BER, enquanto a polimerase δ e/ou ξ sintetizam sequências de ADN durante o processo de reparação LP-BER ou NER. Os valores utilizados pelo MCER são: 10^{-4} para a polimerase β e 10^{-6} para as polimerases δ e ξ . O processo de inserção aleatório é simulado por dos parâmetros BD e BL que descrevem a probabilidade de erro na inserção do nucleótido. Esta probabilidade é de 0.75, pois existem 4 bases.

11. Reparação completa: quando a reparação de todos os nucleótidos num dado segmento em reparação esta finalizada, a simulação regressa ao passo 4 e seleciona o próximo nucleótido danificado para reparação. Esta reparação sequencial de lesões leva a criação de um conceito de ciclos de reparações, sendo que, um ciclo se inicia aquando da seleção da lesão a reparar (passo 4) e termina com a formação de uma DSB enzimática (passo 9) ou com a substituição de todos os nucleótidos pertencentes ao segmento de reparação (passo 11).

12. Terminar a simulação: o simulador finaliza quando todos os danos no segmento completo de ADN em estudo tiverem sido processados. Os danos que não foram classificados como DSB radioinduzidos são classificados como danos corretamente reparados, danos reparados com mutações e danos convertidos em DSB. O rendimento de cada classe de danos é tabulado em número de lesões por danos múltiplos

(clusters). O número de ciclos de reparação necessários para remover cada classe de danos também é transmitido no ficheiro de *output*.

5.5.1 INFORMAÇÃO DE ENTRADA E SAÍDA

No MCER, tal como no MCDS, para a execução do simulador basta escrever na linha de comandos: MCER {nome do ficheiro de input}.inp. Esta linha inicia de imediato o simulador e cria um ficheiro de *outup*, que mais uma vez, é um ficheiro de texto ASCII.

O ficheiro de *input* deste simulador é em parte igual ao ficheiro de input do MCDS (dados necessários para a simulação dos danos), seguido pelos dados necessários para simular a reparação.

Os parâmetros de entrada MCER são:

- **Distância de inibição:** N_{inh} geralmente é igual a 3 bp.
- **Probabilidade de escolha da cadeia de ADN:** $P=0.5$ quando ambas as cadeias tem a mesma probabilidade de serem escolhidas.
- **Taxa de erro da polimerase utilizada na reparação SP-BER:** 10^{-4} para a polimerase β .
- **Taxa de erro da polimerase utilizada na reparação LP-BER:** 10^{-6} para as polimerases δ e ξ .
- **Probabilidade de inserção incorreta para bases danificadas:** $\Phi_{Bd}=0.75$.
- **Probabilidade de inserção incorreta para bases perdidas:** $\Phi_{Bl}=0.75$.

O ficheiro de *output* do MCER é uma tabela que fornece os seguintes resultados:

- **Tempo de execução do simulador** (em minutos).
- **Resumo das condições de *input*.**
- **Resultados do MCDS.**
- **Resultados do MCER:**
 - Probabilidade dos três possíveis resultados dos métodos de reparação por excisão: reparação correta, mutada ou evolução para DSB enzimática.

- Número de ciclos de reparação necessários.
- Resultados detalhados dos quatro cenários de reparação por excisão: SP-BER, LP-BER, SP-NER e LP-NER.

Vários estudos têm demonstrado que a apoptose é, geralmente, iniciada pela replicação de ADN danificado.¹²⁹ Sendo assim, os resultados obtidos pelo MCER podem constituir um método de avaliação indireto para a estimação da probabilidade de indução de apoptose, com base nos dados de reparação do ADN.

5.6 PRINCÍPIOS DO VC

Quando a radiação ionizante interage com uma célula, DSB e outras lesões do ADN são produzidas em menos de um milissegundo. De seguida, os danos radioinduzidos são processados lentamente, por várias vias enzimáticas e reações de reparação erróneas, cujo desempenho determina, o destino da célula em causa. Por outro lado, a cinética do ciclo celular pode ser altamente influenciada pelo processamento da cinética do dano.

O dano crítico ao ADN é o evento iniciador de apoptose, contudo, também os danos a membranas celulares e a outros constituintes da célula podem induzir apoptose. Assim, a avaliação dos danos ao ADN radioinduzido, em particular das DSB, fornecem informação sobre o destino final da célula irradiada, pelo que, modelos de avaliação cinética da radiobiologia celular são de extrema importância.

Os simuladores em radiobiologia assentam em modelos de relação dose-resposta, que tem vindo a ser uma área de grande estudo e desenvolvimento. Estes modelos avaliam o número médio de DSB por célula e outras lesões ao longo do espaço temporal, aplicando equações de cinética química para produção e reparação correta e mutada de lesões. Alguns dos modelos mais conhecidos incluem: o RMR (*Repair-MisRepair*)¹⁸, o LPL (*Lethal-Potentially Lethal*)²⁰ e o TLK (*Two-Lesion Kinetic*)²⁰.

Os modelos RMR e LPL acentuam as reparações erróneas, como, a produção de cromossomas dicêntricos e outras lesões letais devido à interação de duas DSB.²² No modelo LPL (Curtis, 1986)²², as quatro características importantes que

determinam o destino celular, quando expostas à radiação são: rendimento inicial de DSB/Gy/célula, rendimento inicial de lesões irreparáveis/Gy/célula, taxa de reagrupamento de primeira ordem e taxa de danos por emparelhamento, isto é, taxa de agrupamento de segunda ordem. Por seu lado, no modelo RMR (Tobias, 1985) cinco parâmetros chave são utilizados para determinar o potencial mutagénico e letal da radiação ionizante: rendimento inicial de DSB/Gy/célula, probabilidade da DSB ser incorretamente reparada, probabilidade da reparação errónea da DSB ser letal, taxa de reagrupamento DSB de primeira ordem e segunda ordem.

O modelo adotado no Virtual Cell para correr as simulações foi o TLK. Este modelo é conceptualmente similar ao modelo RMR, contudo, neste a radiação produz efetivamente dois tipos de DSB, simples e complexas, enquanto o modelo RMR apenas considera DSB de um tipo. Por outro lado, o modelo RMR é monofásico, enquanto o modelo TLK avalia os efeitos da radiação em células, nomeadamente, a cinética de reagrupamento de uma forma mono ou bifásica.³ Devido ao aumento da flexibilidade permitido pelo TLK, o modelo necessita de oito parâmetros chave: rendimento de DSB simples e complexas/Gy/célula, probabilidade da DSB ser incorretamente reparada, probabilidade de reparação errónea letal da DSB, taxa de reagrupamento da DSB de primeira ordem, taxa de danos por emparelhamento (segunda ordem).¹²⁵

5.6.1 INFORMAÇÃO DE ENTRADA E SAÍDA

O simulador VC é uma solução útil e capaz de simular dois dos desfechos biológicos em células irradiadas: a morte celular e a transformação neoplástica. Este simulador fornece ainda informação sobre formação de danos e reparações no ADN, mas também sobre rendimentos de aberrações cromossómicas, indução de instabilidade genética, cinética do ciclo celular (antes e após irradiação) e probabilidade de irradiação tumoral após radioterapia celular. Sendo um esforço inicial para estudar os processos envolvidos no tratamento do cancro.

Também o simulador VC, à semelhança dos anteriores, é executado a partir de uma janela de comando e iniciado com o comando: VC {nome do ficheiro de input}.ind-d-s (código para debug do simulador).

O ficheiro de *input* do simulador VC, é um ficheiro de texto ASCII dividido em vários subgrupos: cenário de exposição (exposição a uma única dose, exposição a varias doses fraccionadas, exposição a radionuclídeos devido ao decaimento exponencial e radioterapia multi-fraccionada), modelos para simulação de formação e reparação de ADN (LPL, RMR, TLK) e modelos para simulação da cinética celular e tecidular. Adicionalmente podem ser simulados cenários de instabilidade genómica ou transformações neoplásticas, bem como, cenários com ruído aleatório.

Os parâmetros principais do ficheiro *input* do simulador VC são:

- **Linha de código: MODEL**
 - **DRM = TKL:** seleção do modelo de reparações dos danos a utilizar, no caso dos ensaios testados, é o modelo TLK.
 - **CMK = QECK:** especifica o modelo cinético de crescimento celular (quasi-exponential cell kinetics). Sendo determinada pelos parâmetros KAP e VOL do subgrupo CCKM. Neste modelo um vasto número de densidade celular (1.0^{38} células) é utilizado para evitar erros de excesso de fluxo.
- **Linha de código: CELL**
 - **DNA = 5.667D+09:** conteúdo de ADN celular, em número de pares de bases, na fase G0 ou G1 do ciclo celular.
 - **NC = 46:** número de cromossomas por célula. Em células eucarióticas de humanos o valor é de 23 pares de cromossomas.
- **Linha de código: ENDO**
 - **DSB = 4.3349E-03:** número esperado de DSB complexas endógenas por hora em cada célula.
- **Linha de código: IRAD**
 - **DSB = {50.149; 50.055; 49.906; 49.880; 49.631; 49.890; 50.151; 50.430; 49.635; 49.944; 130.338}:** número de DSB esperado por Gy/célula.

- **FCB = {0.13171; 0.13029; 0.13062; 0.13442; 0.13145; 0.12969; 0.13474; 0.13385; 0.12934; 0.12963; 0.45652}**: fração de DSB por unidade de dose de radiação ionizante que são complexas.
- **Linha de código: CLRP**
 - **RHT = XXX**: tempo de semi-vida para reparação de DSB, em horas. Caso se pretenda especificar que as quebras simples são mais rapidamente reparadas que as quebras duplas, deve-se aplicar a seguinte linha de código: RHT=XXX/XXX=0.25/9.
 - **ETA = 2.5E-04**: taxa de interação da reparação errónea com mutação, expressa em horas.
 - **PHI = 0.005**: probabilidade de uma reparação errónea de uma DSB ser letal (0.5% das reparações erróneas das DSB são letais).
 - **A0 = AAA**: probabilidade de uma reparação correta das DSB. Caso se pretenda distinguir entre a reparação de quebras simples e duplas, então é necessária a seguinte linha de código: A0=AAA/AAA=0.95/0.25.
 - **GAM = 0.25**: fração de danos erróneos que são letais, segundo a literatura 25% das aberrações cromossómicas formadas pela reparação errónea são letais.²²
- **Linha de código: CCKM**
 - **TCC**: tempo médio para uma célula completar mitose, expresso em horas.
 - **TPOT**: tempo de duplicação celular, expresso em dias.
 - **GF**: fração da população celular que se encontra ativamente em divisão (em mitose). Se GF=0, nenhuma célula se encontra em divisão (quiescentes), se GF=1 todas as células estão em divisão ativa. Para valores de GF>0, o tempo de divisão é determinado pelo TCC e TPOT.
 - **NO**: número inicial de células no início da simulação (t=0).
 - **KAP**: máximo de densidade celular (células/cm³). Quando KAP=1.0D+38, a densidade celular é elevadíssima.

- **VOL:** volume efetivo da massa celular em causa (cm^3).
- **Linha de código: SOLVE**
 - **DBLV:** nível de debug do simulador. Existem 3 níveis: 0 - Informação mínima, 1 - Informação intermédia e 2 - Informação Máxima. Quanto maior o nível de debug, maior é o tempo de CPU requerido para realizar a simulação.
 - **ETOL:** método para quantificação e determinação do erro de tolerância. Erros de tolerância na ordem dos 10^{-7} a 10^{-12} apresentam bons resultados. O tempo de processamento aumenta com a diminuição do valor ETOL.
 - **MXSS:** numero máximo de subpassos do simulador. São recomendados valores elevados.
 - **HMAX:** máxima duração do subpasso, sendo recomendado valores entre 1 e 24 horas.
- **Linha de código: SIMCON**
 - **FSDX:** fracionamento do tempo de simulação para obtenção de resultados durante ou depois (se FSDX=0.001 resultados durante, se FSDX=1 resultados no fim da simulação).
 - **TSAX:** duração de cada subpasso após a simulação, expresso em horas. Recomenda-se valores reduzidos, de forma a obter mais informação sobre a cinética de reparação do dano e controlar melhor o fim da simulação.
 - **TCUT:** tempo após a exposição para reparação dos danos, expresso em horas. Por exemplo, se TCUT=1, a simulação será terminada a uma hora após a exposição independentemente do tempo de exposição.
 - **FRDL:** fração de danos residuais no fim da simulação que são tratados como danos letais.
 - **ACUT:** dano residual absoluto por célula no final da simulação, expresso em número de danos do ADN por célula. A simulação é terminada quando a quantidade de danos residuais (irreparáveis) é menor que o valor ACUT.

- **Linha de código: DECAY**
 - **BGDR:** taxa de dose absorvida devido à radiação de fundo, expressa em Gy/h. Sabe-se que a radiação natural média do planeta é de aproximadamente 2.4 mGy/ano, logo o BGDR será de 2.73784E-07.
 - **DCUT:** dose de cutoff, em Gy. Parâmetro que limita a simulação para reparação dos danos a uma determinada dose mínima.
 - **LAM:** constante de decaimento radioativo (específica para cada radioisótopo), expressa em horas.
 - **RHL:** semi-vida física do radionuclídeo em estudo, expresso em horas.
 - **STOL:** tolerância na duração do subpasso do simulador (Gy/h). A medida que o valor STOL diminui, o tempo de cada subpasso diminui e a natureza exponencial da verdadeira taxa de dose é modelada mais eficazmente.
 - **TCUT:** tempo de cut off, em horas. Tempo utilizado para suprimir a função de taxa de dose num dado momento do tempo, após a irradiação do sistema celular de interesse.
 - **SAD:** dose absorvida no intervalo de tempo [0, TCUT], expressa em Gy.

5.7 SUMÁRIO

Diversos simuladores computacionais foram criados com base no método Monte Carlo, incluindo os escolhidos para desenvolver esta Dissertação. O algoritmo utilizado para construção dos simuladores utilizados neste trabalho (MCDS, MCER e VC) é um método simplificado do código Monte Carlo, pelo que as exigências computacionais são ultrapassadas e um simples computador de uso pessoal pode ser utilizado para obtenção dos resultados.

Os modelos cinéticos da produção de danos radioinduzidos e o seu processamento podem facilitar a interpretação das observações radiobiológicas.

Possibilitando assim a realização de estimativas quantitativas da relação dose-resposta, apresentando assim grandes aplicações na área da radioterapia.

Os simuladores expostos neste capítulo (MCDS, MCER e VC) apresentam pontos de ligação comuns, sendo que informações de saída de um simulador são utilizadas como dados de entrada do simulador seguinte, como se pode concluir na Figura 14.

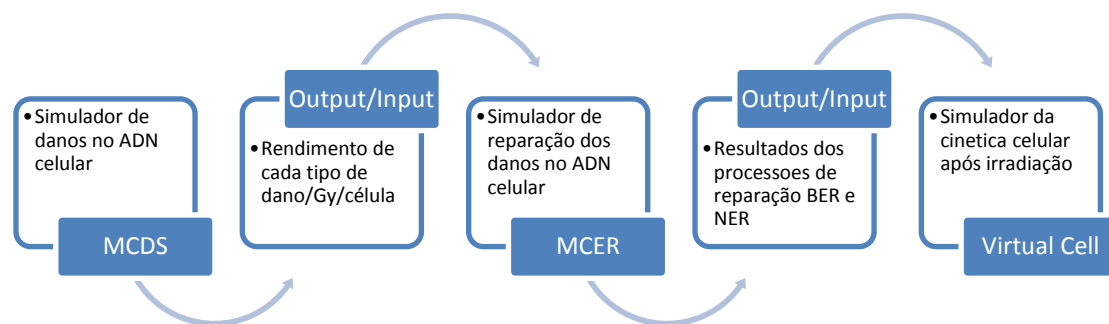


Figura 14: Esquema dos diferentes métodos utilizados na presente Dissertação para obtenção dos resultados e suas interligações.³

Capítulo 6

SIMULAÇÕES, RESULTADOS E ANÁLISE

6.1 INTRODUÇÃO

Neste capítulo são apresentados os parâmetros testados, bem como os resultados obtidos com as simulações realizadas com vista a clarificar o potencial terapêutico dos diferentes radioisótopos atualmente em uso na prática clínica ou sob investigação no contexto da terapia paliativa das metástases ósseas. Especificamente, esta Dissertação foca-se no estudo das metástases ósseas de tumores primários da próstata.

Este capítulo encontra-se dividido em cinco secções principais. Na primeira estão expostos os parâmetros e cenários simulados. Na segunda estão expostos os resultados obtidos pelo simulador MCDS, e que dizem respeito ao rendimento de danos no ADN obtido pela irradiação dos diferentes radioisótopos. Na terceira secção, expõem-se os resultados obtidos pelo simulador MCER, que avalia, uma vez criado o dano, qual a probabilidade deste ser corretamente reparado, apresentar mutação ou evoluir para quebra dupla do ADN. Na quarta secção avaliam-se os resultados da irradiação na cinética celular dos três tipos de culturas celulares humanas: células da próstata, células da próstata com perfil neoplásico e células da próstata com fenótipo metastático. Nesta secção são apresentados os resultados principais do simulador VC que incluem: número médio de mutações letais por célula para diferentes tipos de irradiação, número de células sobreviventes em divisão ou quiescentes, resultados da avaliação da indução de instabilidade genética e mutagénese, frequência de transformação neoplásica e finalmente de controlo tumoral após irradiação. Finalmente, na quinta e última secção deste capítulo procede-se à análise e discussão dos resultados obtidos.

6.2 PARÂMETROS EXPERIMENTAIS TESTADOS

Para a realização da presente Dissertação utilizaram-se os simuladores descritos no capítulo 5, de forma a analisar os potenciais efeitos terapêuticos dos diferentes radioisótopos atualmente em uso na prática clínica ou sob investigação no contexto da terapia paliativa das metástases ósseas. Para tal avaliaram-se as principais emissões dos seguintes radioisótopos ^{32}P , ^{89}Sr , ^{90}Y , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{170}Tm , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re e ^{223}Ra (cujas características principais estão descritas em

maior detalhe no capítulo 4). As células estudadas incluem células com cinética idêntica às células da próstata humana, células da próstata neoplásicas e células da próstata com fenótipo metastático. As Tabela 20 e Tabela 21, indicam resumidamente as condições simuladas para cada radioisótopo e célula nos diferentes simuladores MCDS, MCER e VC. Dos resultados obtidos a partir do simulador MCDS e MCER determinou-se o número de DSB, bem como a fração de DSB que são complexas, a fim de se incorporar nos dados de entrada do simulador VC. A irradiação dos três tipos de células, utilizando o simulador VC, foi realizada durante períodos de 2, 24, 48, 120 e 240 horas (ver Tabela 22, TCUT) e com doses de radiação absorvidas nesse intervalo de tempo a variar entre 0.1, 0.5, 1, 2, 5 e 8 Gy.

O número inicial de células utilizado no simulador VC foi, à semelhança dos simuladores MCDS e MCER, de 1000 células, as quais se disponham numa densidade celular muito elevada ($1.0D+38$) e num volume reduzido (1cm^3).

As condições mencionadas na Tabela 21 foram mantidas constantes para os diferentes tipos de agentes irradiantes, com o objetivo de comparar os diferentes radioisótopos nos mesmos cenários celulares. As condições diferentes simuladas no VC estão apresentadas na Tabela 22 e referem-se a variáveis características das células e dos radioisótopos estudados.

Tabela 20. Condições de *input* simuladores MCDS e MCER.

Radioisótopo	Partícula	Energia (MeV)	Intensidade (%)	Condições comuns MCDS e MCER
^{32}P	e	0.6955	100	• Nº de células inicial = 1000
^{89}Sr	e	0.5846	99.99	• Concentração de DMSO = 0
^{90}Y	e	0.9267	99.98	Condições comuns MCDS e MCER
$^{117\text{m}}\text{Sn}$	e	0.1268	64.8	• Distancia de inibição = 3 Pb
^{153}Sm	e	0.2253	49.2	• Probabilidade de selecionar lesão na 1ª cadeia (P1)= 0.5
^{166}Ho	e	0.6511	50.5	• Taxa de erro da polimerase $\beta = 1.0^{-4}$
^{170}Tm	e	0.3231	81.6	• Taxa de erro da polimerase δ e $\xi = 1.0^{-6}$
^{177}Lu	e	0.1494	79.3	• Probabilidade de inserção incorreta da base danificada ou perda oposta = 0.75
^{186}Re	e	0.3596	70.9	
^{188}Re	e	2.1204	71.1	
^{223}Ra	4He	5.7158	45.6	

Legenda: e - eletrão, 4He - partícula alfa

Tabela 21. Condições de *input* comuns do simulador VC.

Condições Comuns VC		
DRM = TLK & CKM = QECK	VOL = 1	DCUT = 0.01
DSB (endo) = 4.3349E-03	DBLV = 0	STOL = 0.01
RHT = XXX; XXX = 0.25 0.29	ETOL = 1.0E-09	TSAX = 5
A0 = AAA; AAA= 0.95 0.25	MXSS = 999999	TCUT = 2, 24, 48, 120, 240
ETA = 2.75E-04	HMAX = 10	SAD = RX1
PHI = 0.005	FDX = 1	RX1= 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 8
GAM = 0.25	FRDL = 0.5	KAP = 1.0D+38
No = 1000	ACUT = 1.0D09	BGDR = 2.73748E-07

6.3 RESULTADOS DO MCDS

Os resultados obtidos pelo simulador MCDS demonstram que a percentagem de danos simples induzidos no ADN pelas partículas radioativas emitidas por diferentes radioisótopos apresenta a seguinte ordem: $^{223}\text{Ra} \gg ^{177}\text{Lu}, ^{153}\text{Sm} > ^{117\text{m}}\text{Sn} > ^{170}\text{Tm}, ^{89}\text{Sr}, ^{90}\text{Y} > ^{166}\text{Ho}, ^{188}\text{Re} > ^{32}\text{P}, ^{186}\text{Re}$ (Figura 15). A Figura 16 apresenta a percentagem dos diferentes tipos de danos simples complexos induzidos por cada partícula em estudo, isto é, duas ou mais SSB na mesma sequência ou duas SSB em sequências opostas separadas por mais de 10 pares de bases. Por outro lado a percentagem de SSB complexas induzidos no ADN pelas partículas radioativas emitidas por diferentes radioisótopos apresenta a seguinte ordem : $^{223}\text{Ra} \gg ^{89}\text{Sr}, ^{186}\text{Re}, ^{177}\text{Lu}, ^{117\text{m}}\text{Sn} > ^{32}\text{P} > ^{188}\text{Re} > ^{166}\text{Ho}, ^{170}\text{Tm} > ^{90}\text{Y} > ^{153}\text{Sm}$ (Figura 17).

A percentagem de lesões de quebra dupla resulta na seguinte ordem de forma decrescente: $^{223}\text{Ra} \gg ^{186}\text{Re}, ^{177}\text{Lu}, ^{89}\text{Sr} > ^{117\text{m}}\text{Sn}, ^{32}\text{P} > ^{188}\text{Re} > ^{170}\text{Tm}, ^{166}\text{Ho} > ^{90}\text{Y} > ^{153}\text{Sm}$, (Figura 18). A informação relativa à percentagem do tipo de DSB pode ser consultada na Figura 19. A percentagem de DBS complexos induzidos no ADN pelas partículas radioativas emitidas por diferentes radioisótopos apresenta a seguinte ordem: $^{223}\text{Ra} \gg ^{170}\text{Tm}, ^{177}\text{Lu}, ^{117\text{m}}\text{Sn} > ^{153}\text{Sm}, ^{32}\text{P} > ^{89}\text{Sr}, ^{90}\text{Y} > ^{166}\text{Ho}, ^{188}\text{Re}, ^{186}\text{Re}$ (Figura 20). Todas estas figuras podem ser consultadas de forma conjunta no Anexo A.1.

Tabela 22. Condições específicas de *input* utilizadas no simulador VC.

Partículas	Energia (MeV)	RHL (Horas)	LAM	DSB	FCB	Tipo de Células	TCC	TPOT	GF
³² P	0.6955	342.72	0.00202	50.149	0.13171	Próstata	48	500	0 / 0.5 / 1
						Neoplásicas	48	154	0 / 0.5 / 1
						Metastáticas	48	54	0 / 0.5 / 1
⁸⁹ Sr	0.5846	1212	0.00057	50.055	0.13029	Próstata	48	500	0 / 0.5 / 1
						Neoplásicas	48	154	0 / 0.5 / 1
						Metastáticas	48	54	0 / 0.5 / 1
⁹⁰ Y	0.9267	64.08	0.01082	49.906	0.13062	Próstata	48	500	0 / 0.5 / 1
						Neoplásicas	48	154	0 / 0.5 / 1
						Metastáticas	48	54	0 / 0.5 / 1
^{117m} Sn	0.1268	326.4	0.00212	49.880	0.13442	Próstata	48	500	0 / 0.5 / 1
						Neoplásicas	48	154	0 / 0.5 / 1
						Metastáticas	48	54	0 / 0.5 / 1
¹⁵³ Sm	0.2253	46.8	0.01480	49.631	0.13145	Próstata	48	500	0 / 0.5 / 1
						Neoplásicas	48	154	0 / 0.5 / 1
						Metastáticas	48	54	0 / 0.5 / 1
¹⁶⁶ Ho	0.6511	643.2	0.00180	49.890	0.12969	Próstata	48	500	0 / 0.5 / 1
						Neoplásicas	48	154	0 / 0.5 / 1
						Metastáticas	48	54	0 / 0.5 / 1
¹⁷⁰ Tm	0.3231	3086.4	0.02626	50.151	0.13474	Próstata	48	500	0 / 0.5 / 1
						Neoplásicas	48	154	0 / 0.5 / 1
						Metastáticas	48	54	0 / 0.5 / 1
¹⁷⁷ Lu	0.1494	160.8	0.00431	50.430	0.13385	Próstata	48	500	0 / 0.5 / 1
						Neoplásicas	48	154	0 / 0.5 / 1
						Metastáticas	48	54	0 / 0.5 / 1
¹⁸⁶ Re	0.3596	90.48	0.00766	49.635	0.12934	Próstata	48	500	0 / 0.5 / 1
						Neoplásicas	48	154	0 / 0.5 / 1
						Metastáticas	48	54	0 / 0.5 / 1
¹⁸⁸ Re	2.1204	16.8	0.00170	49.944	0.12963	Próstata	48	500	0 / 0.5 / 1
						Neoplásicas	48	154	0 / 0.5 / 1
						Metastáticas	48	54	0 / 0.5 / 1
²²³ Ra	5.71581	274.32	0.00253	130.338	0.45652	Próstata	48	500	0 / 0.5 / 1
						Neoplásicas	48	154	0 / 0.5 / 1
						Metastáticas	48	54	0 / 0.5 / 1

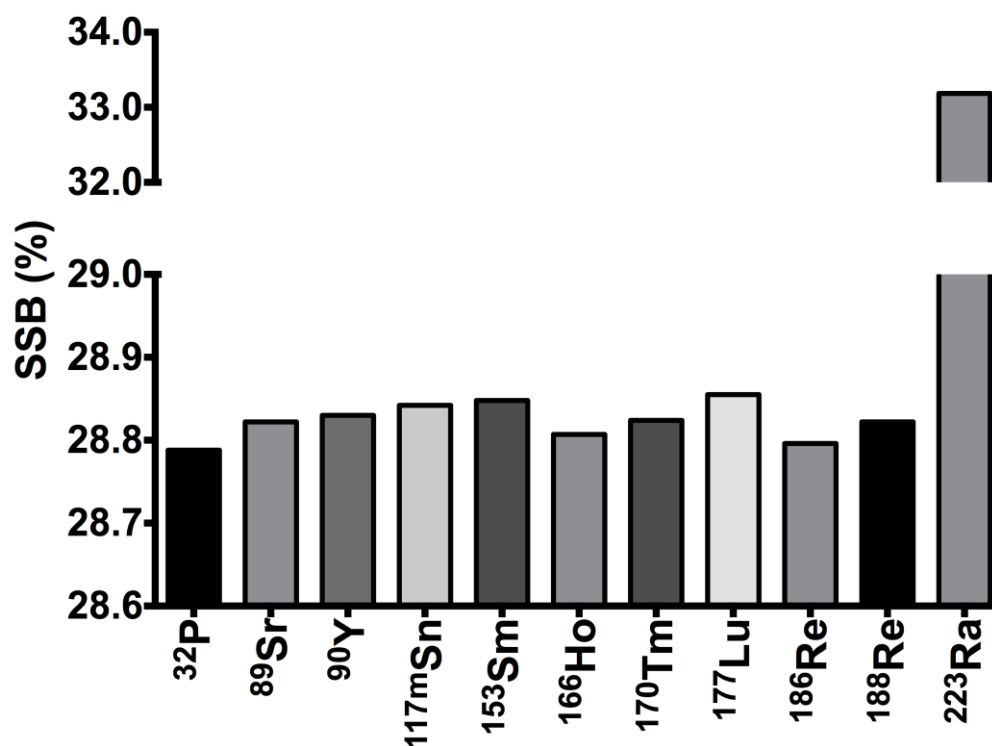


Figura 15: Percentagem total das SSB radioinduzidas após irradiação com os diferentes isótopos.

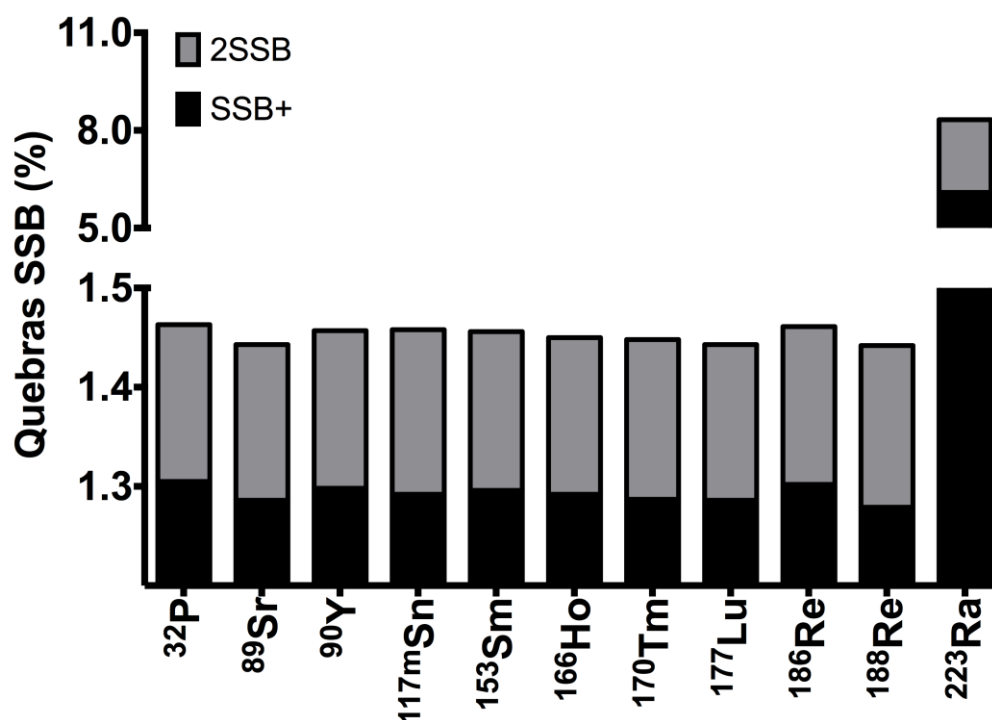


Figura 16: Percentagem de duas ou mais SSB na mesma sequência de ADN (2SSB), duas ou mais SSB em segmentos opostos separados por 10 ou mais pares de bases (2 ou +SSB).

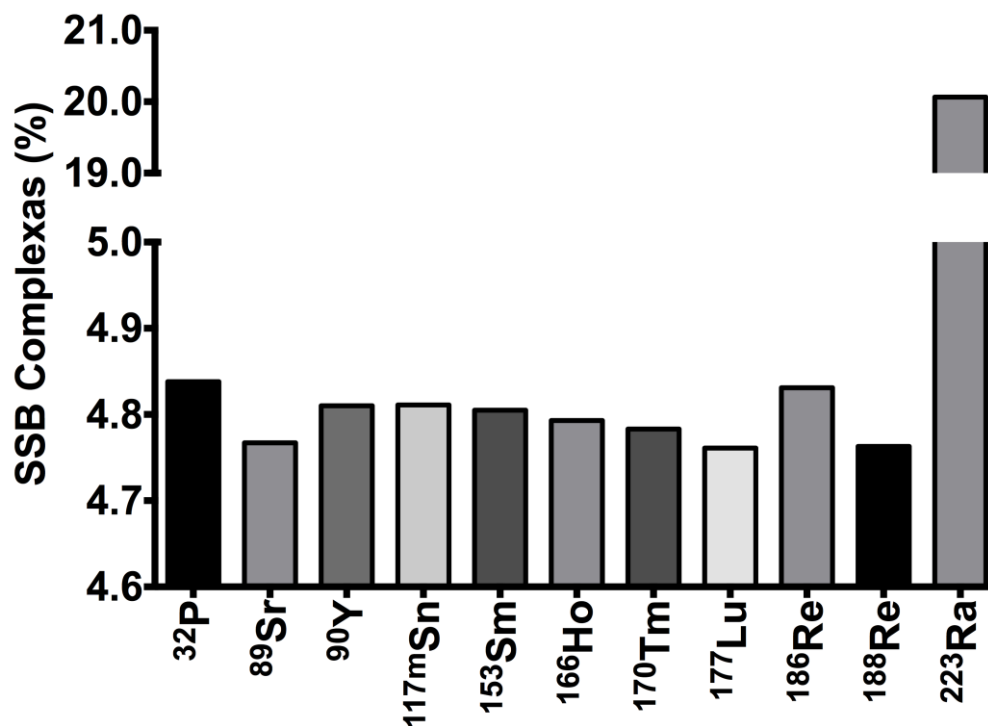


Figura 17: Fração de SSB complexas após irradiação com os diferentes isótopos.

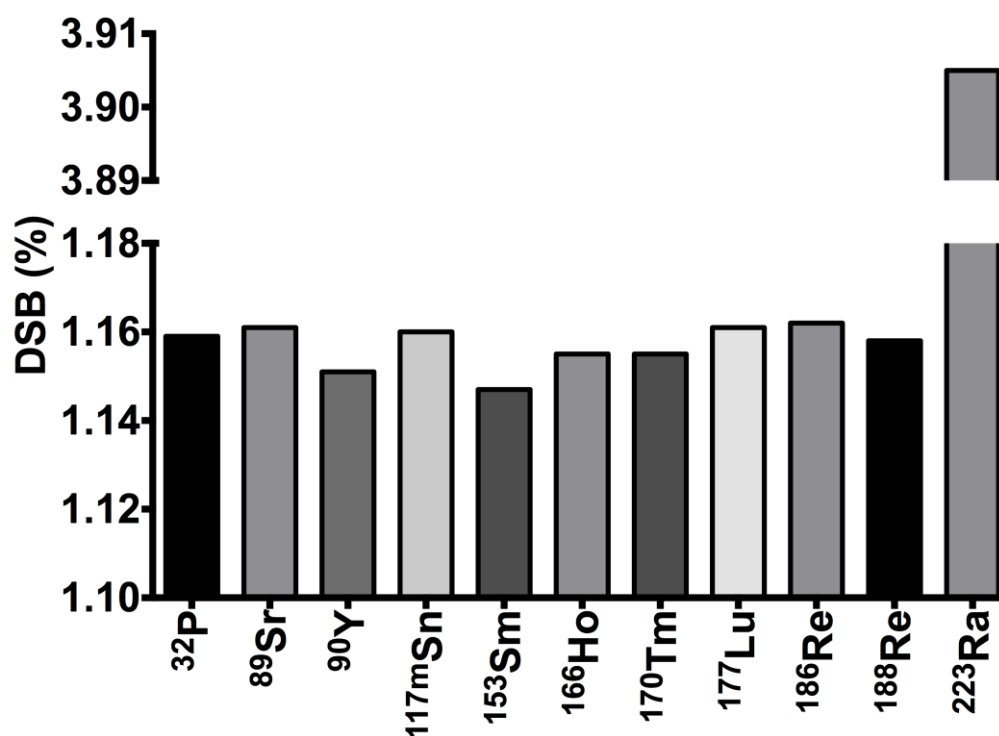


Figura 18: Percentagem total das DSB radioinduzidas após irradiação com os diferentes isótopos.

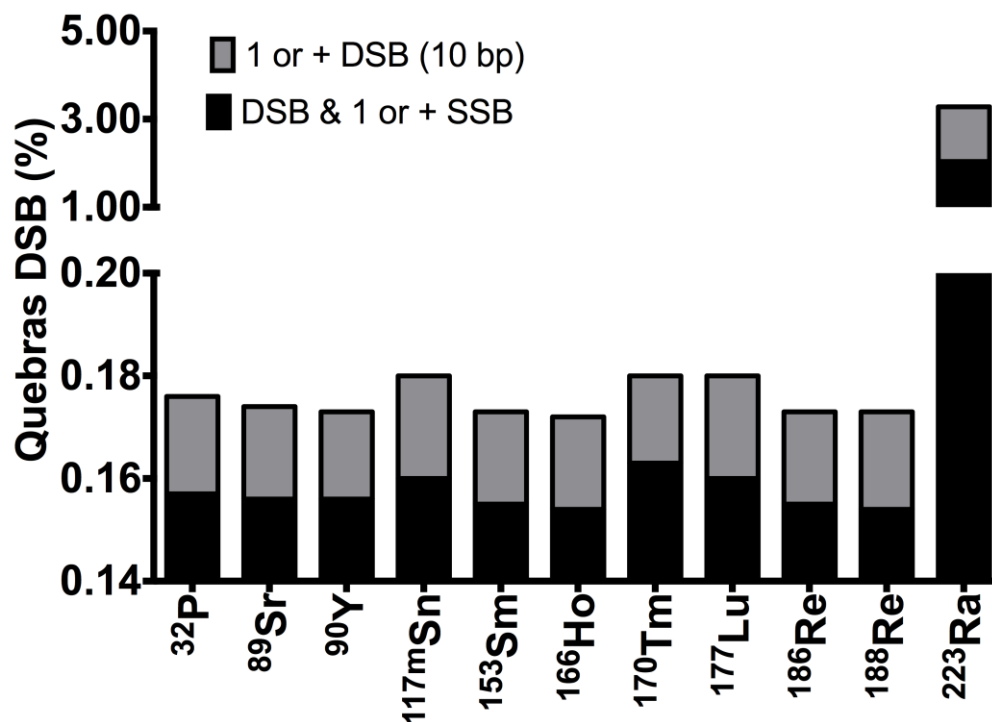


Figura 19: Percentagem de uma DSB e uma ou mais SSB separadas por no máximo 10 pares de bases (1 ou +DSB)

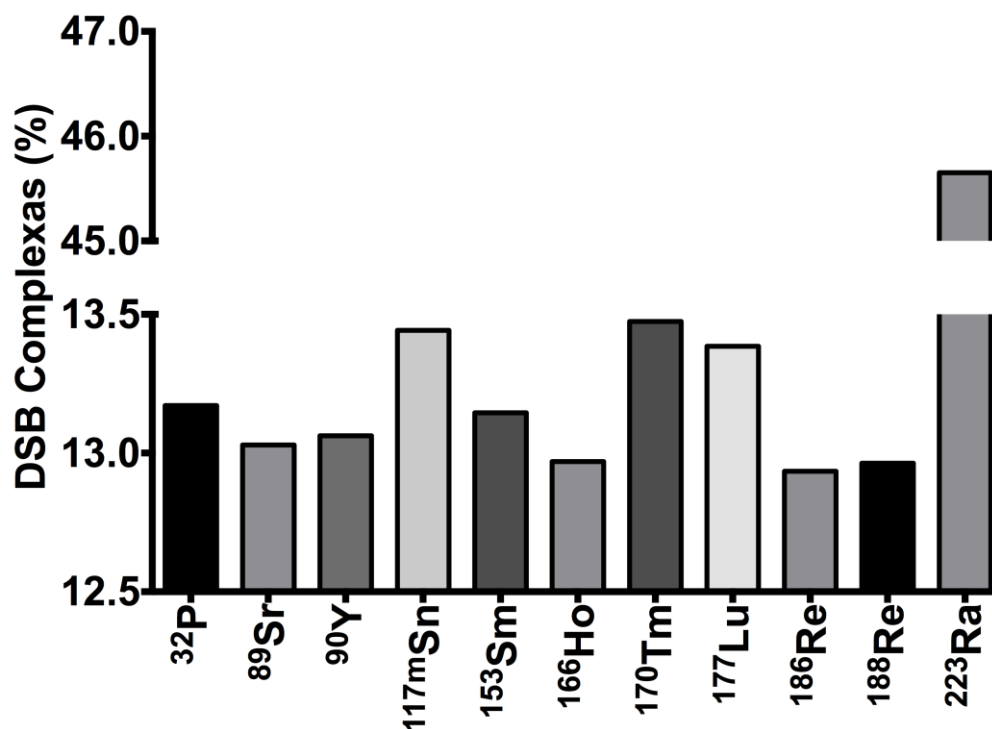


Figure 20: Fração de DSB complexas após irradiação com os diferentes isótopos.

6.4 RESULTADOS DO MCER

Os resultados compilados no simulador MCER estão expostos de forma conjunta no Anexo A.2. Estes incluem os resultados dos quatro principais mecanismos de reparação de quebras simples do ADN, explicados no capítulo 2: SP-BER, LP-BER, SP-NER e LP-NER. O aumento do número de danos no ADN, bem como o aumento da sua complexidade dificulta o processo de reparação com sucesso, como se observa pelos resultados obtidos pelo simulador MCER. Estes resultados permitem concluir que a probabilidade de reparação correta apresenta a seguinte ordem: $^{166}\text{Ho} > ^{90}\text{Y}, ^{89}\text{Sr}, ^{188}\text{Re} > ^{32}\text{P}, ^{186}\text{Re} > ^{170}\text{Tm}, ^{153}\text{Sm} > ^{117\text{m}}\text{Sn} > ^{177}\text{Lu} >> ^{223}\text{Ra}$, (Figura 21). Os resultados da probabilidade de uma reparação mutada após irradiação com as diferente partículas radioativas em estudo podem ser consultados na Figura 22. Para além disso, a probabilidade de evolução para DSB do ADN é: $^{223}\text{Ra} >> ^{177}\text{Lu}, ^{170}\text{Tm}, ^{117\text{m}}\text{Sn} > ^{153}\text{Sm}, ^{89}\text{Sr} > ^{186}\text{Re}, ^{90}\text{Y} > ^{188}\text{Re}, ^{166}\text{Ho} > ^{32}\text{P}$ (Figura 23). Os resultados indicam que são necessários mais ciclos de reparação para o ^{223}Ra seguido pelo $^{177}\text{Lu}, ^{117\text{m}}\text{Sn} > ^{170}\text{Tm} > ^{90}\text{Y} > ^{153}\text{Sm} > ^{89}\text{Sr} > ^{186}\text{Re}, ^{32}\text{P} > ^{166}\text{Ho}, ^{188}\text{Re}$ (Figura 24).

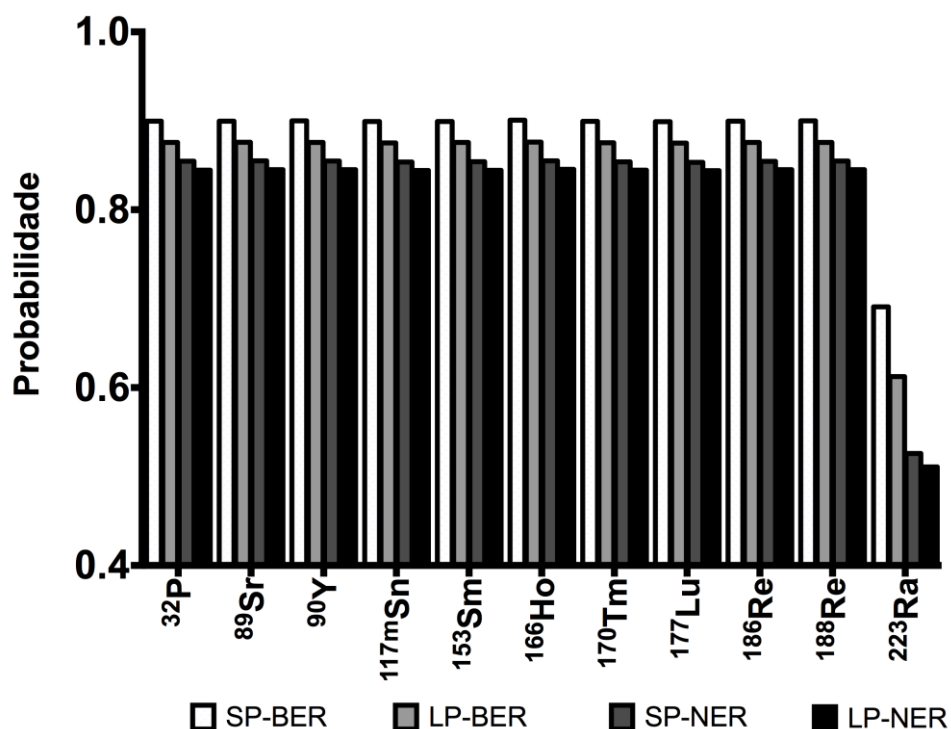


Figura 21: Probabilidade de uma reparação correta (p COR), para SP-BER, LP-BER, SP-NER e LP-NER.

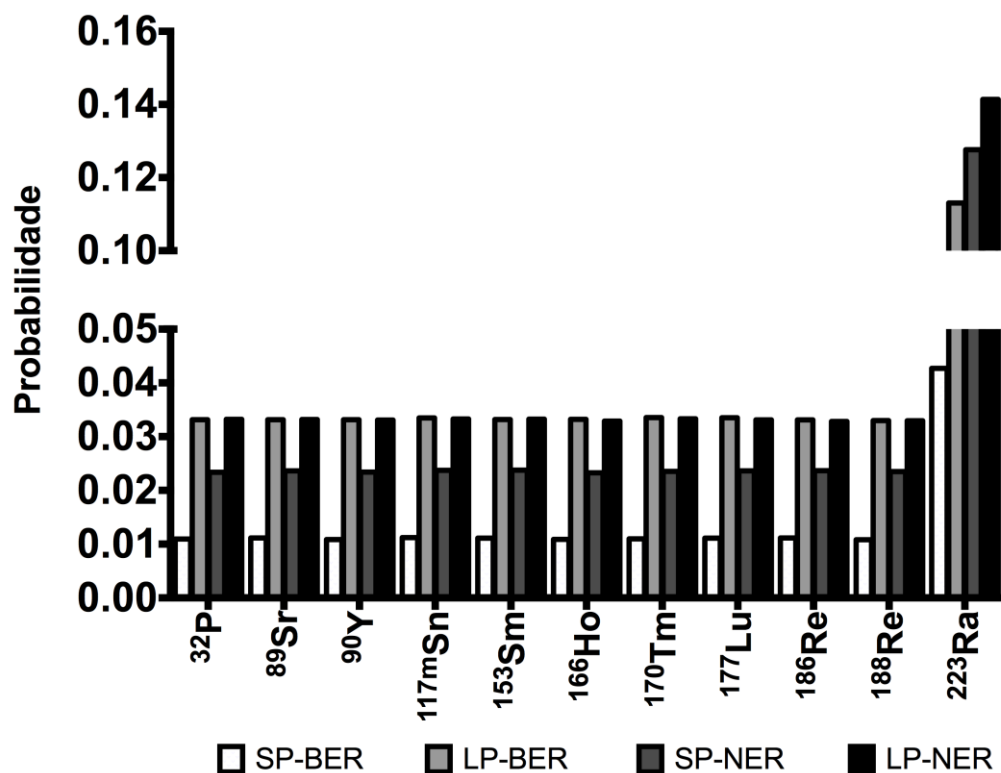


Figura 22: Probabilidade de reparação com mutações (p_{MUT}), para SP-BER, LP-BER, SP-NER e LP-NER.

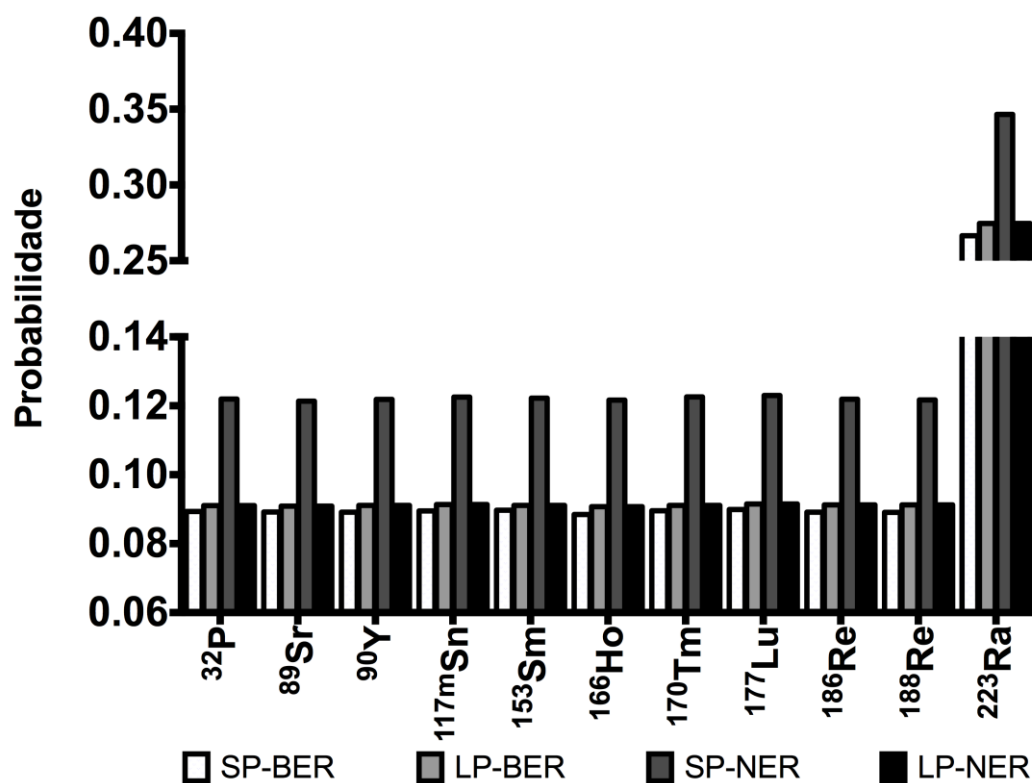


Figura 23: Probabilidade de uma reparação com evolução para DSB (p_{DSB}), para SP-BER, LP-BER, SP-NER e LP-NER.

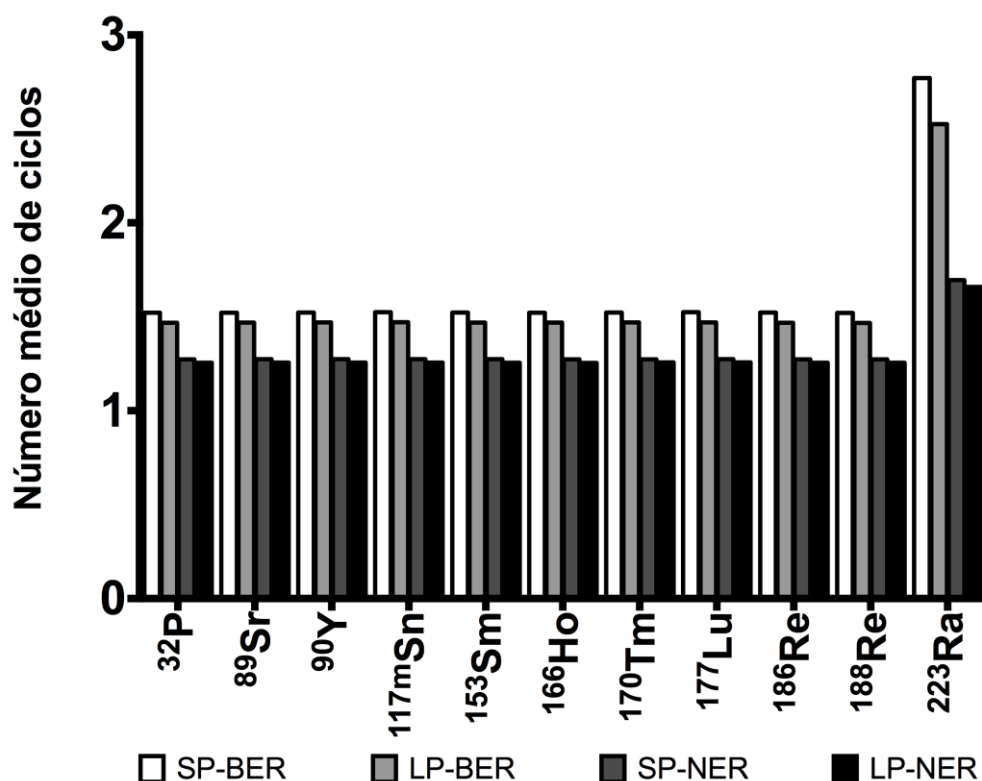


Figura 24: Número médio de ciclos necessários para reparação, para SP-BER, LP-BER, SP-NER e LP-NER.

6.5 RESULTADOS DO VC

Os resultados gerados pelo simulador VC estão expostos na Figura 25 até à Figura 35 e nos Anexos A.3 até A.14.

A Figura 25 apresenta a fração de células que sobrevivem após irradiação com os diferentes agentes. Estes resultados demonstram que o ^{223}Ra apresenta a menor fração de sobrevida após irradiação com uma fração média de sobrevida de cerca de 0.375, seguido pelo ^{170}Tm com uma fração média de sobrevida de 0.783 e pelo ^{177}Lu com uma fração média de sobrevida de 0.795. Como termo de comparação apresentam-se também na Figura 26 os resultados médios obtidos para o ^{153}Sm (fração média de sobrevida de 0.796) e para o ^{89}Sr (fração média de sobrevida de 0.801), dado que estes radioisótopos são mais comumente utilizados na prática clínica para alívio da dor óssea. A fração de sobrevida apresenta a seguinte ordem: $^{166}\text{Ho} > ^{186}\text{Re}, ^{188}\text{Re} > ^{89}\text{Sr} > ^{32}\text{P} > ^{90}\text{Y} > ^{117\text{m}}\text{Sn} > ^{153}\text{Sm} > ^{177}\text{Lu} > ^{170}\text{Tm} > ^{223}\text{Ra}$. Diferenças estatisticamente significativas são observadas em relação aos 11

agentes irradiantes estudados quanto a fração de sobrevivência apresentada ($p < 0.0001$ e $p = 0.0053$ ANOVA, com e sem os valores relativos ao ^{223}Ra , respetivamente).

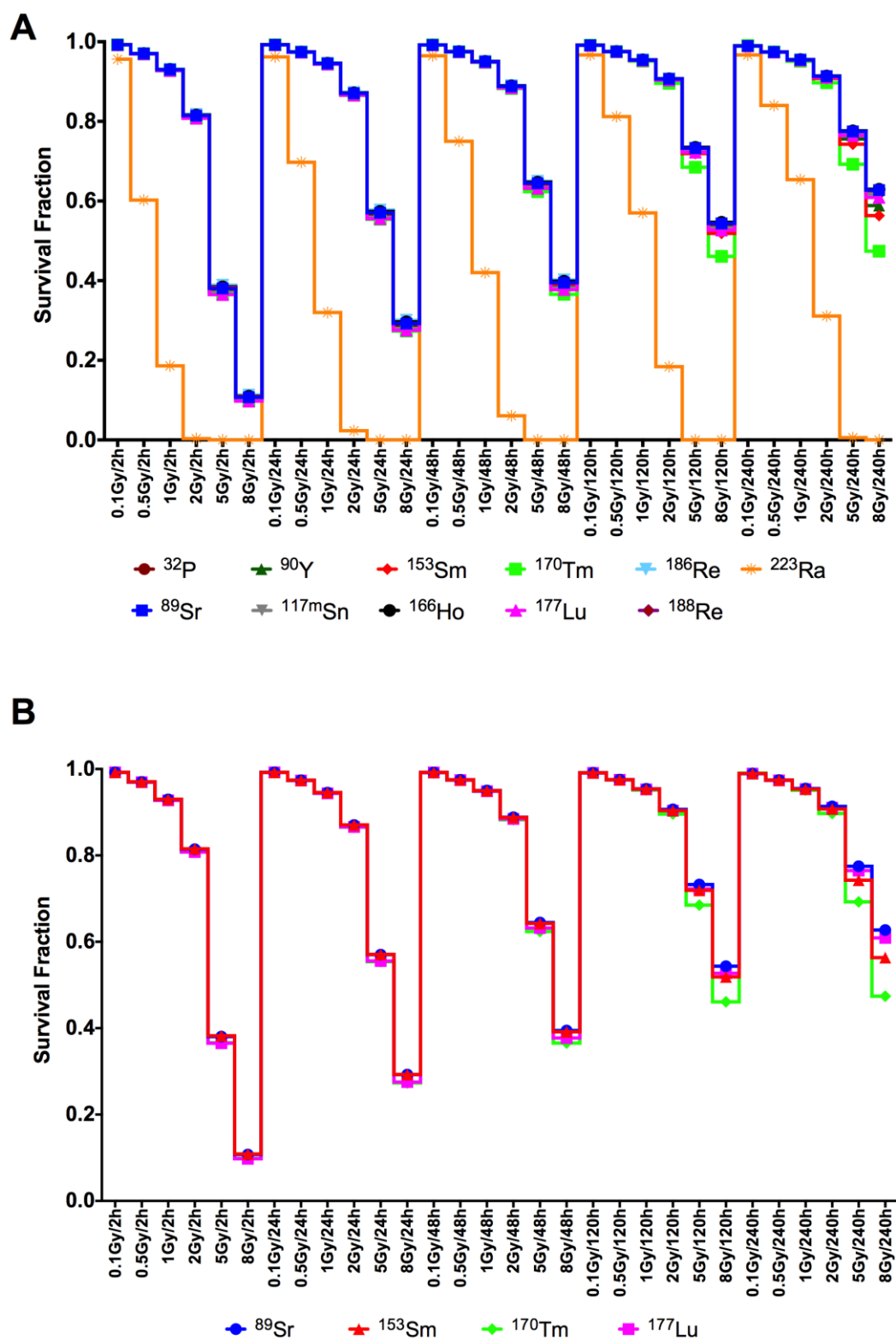


Figura 25: Fração de sobrevivência após irradiação com os diferentes radioisótopos com e sem o ^{223}Ra (A e B, respetivamente).

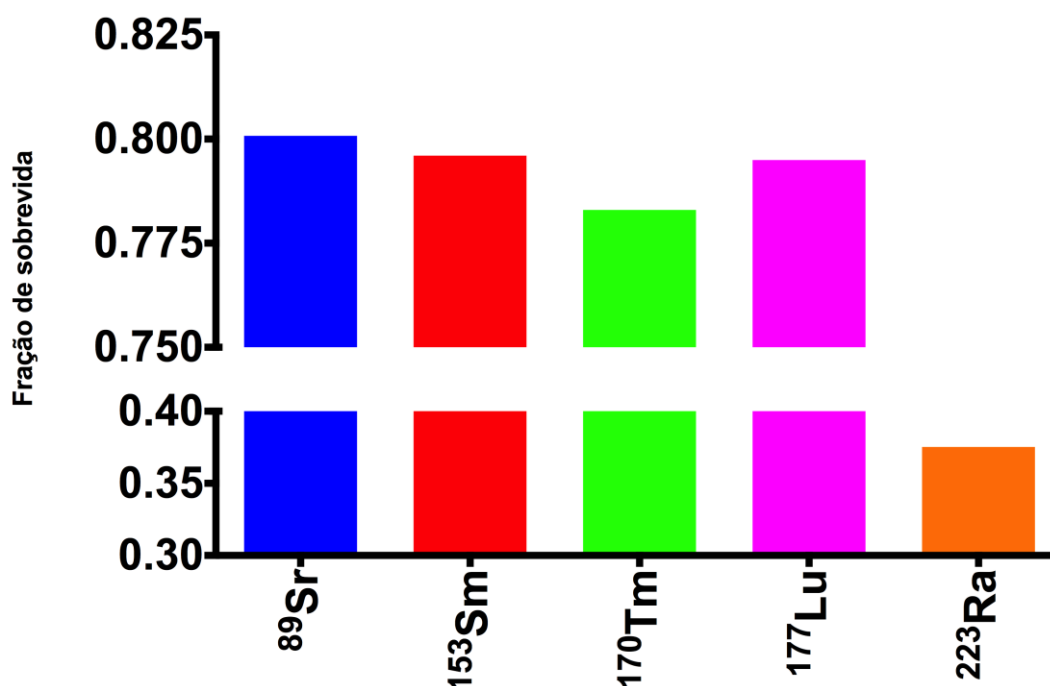


Figura 26: Fração de sobrevivência média após irradiação com os diferentes radioisótopos.

A Figura 27, Figura e a Tabela do anexo A.3 apresentam-se os resultados obtidos em termos de mutações letais por célula. Estes resultados demonstram que o ^{223}Ra , o ^{170}Tm e o ^{177}Lu são os radioisótopos que induzem maior número de danos letais nas células irradiadas de entre todos os estudados (Tabela presente no anexo A.3), sendo que o ^{223}Ra apresenta maior potencial para indução de danos letais nas células irradiadas induzindo cerca de 8.10 lesões por célula, seguido pelo ^{170}Tm com 0.337 lesões por célula e do ^{177}Lu com 0.317 lesões por célula. O ^{153}Sm e o ^{89}Sr , dois dos radioisótopos mais comumente utilizados na prática clínica para terapia paliativa das metástases ósseas, induziram cerca de 0.311 e 0.303 lesões por célula, respetivamente. Quando se analisa especificamente estes 5 radioisótopos, verificam-se diferenças estatisticamente significativas com ($p=0.0023$, teste ANOVA) ou sem ($p=0.0048$, teste ANOVA) os resultados do ^{223}Ra . Na Figura 27 é possível observar o número de lesões letais provocadas nas células por cada isótopo nos diferentes cenários testados, sendo possível concluir que com o aumento da quantidade da radiação existe um aumento do número de lesões e o contrário ocorre com o aumento do período de exposição. Estes resultados reforçam e suportam, mais uma vez, os resultados dos outros simuladores.

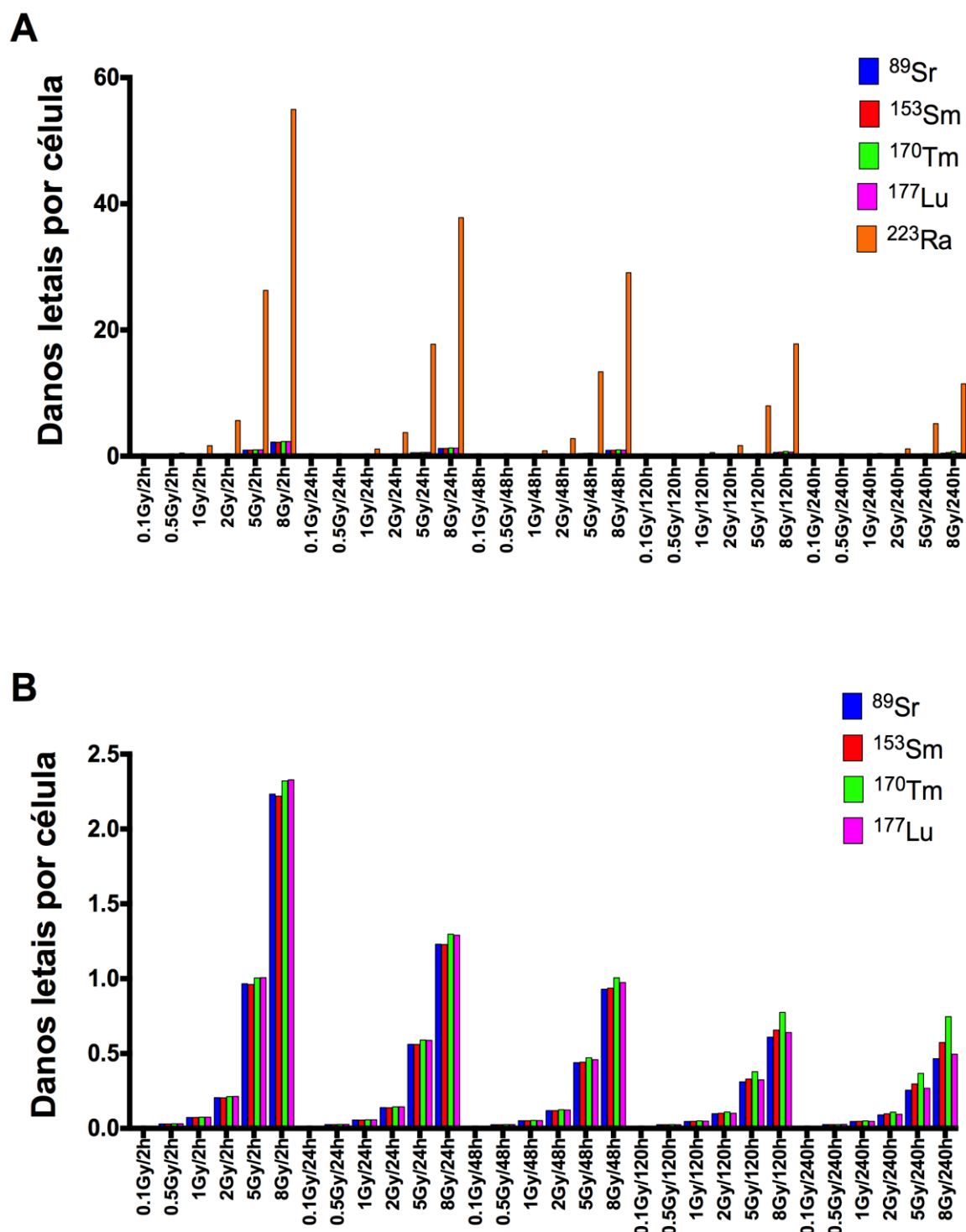


Figura 27: Danos letais provocados no ADN após irradiação com os diferentes radioisótopos. Resultados com e sem o ^{223}Ra (A e B, respetivamente).

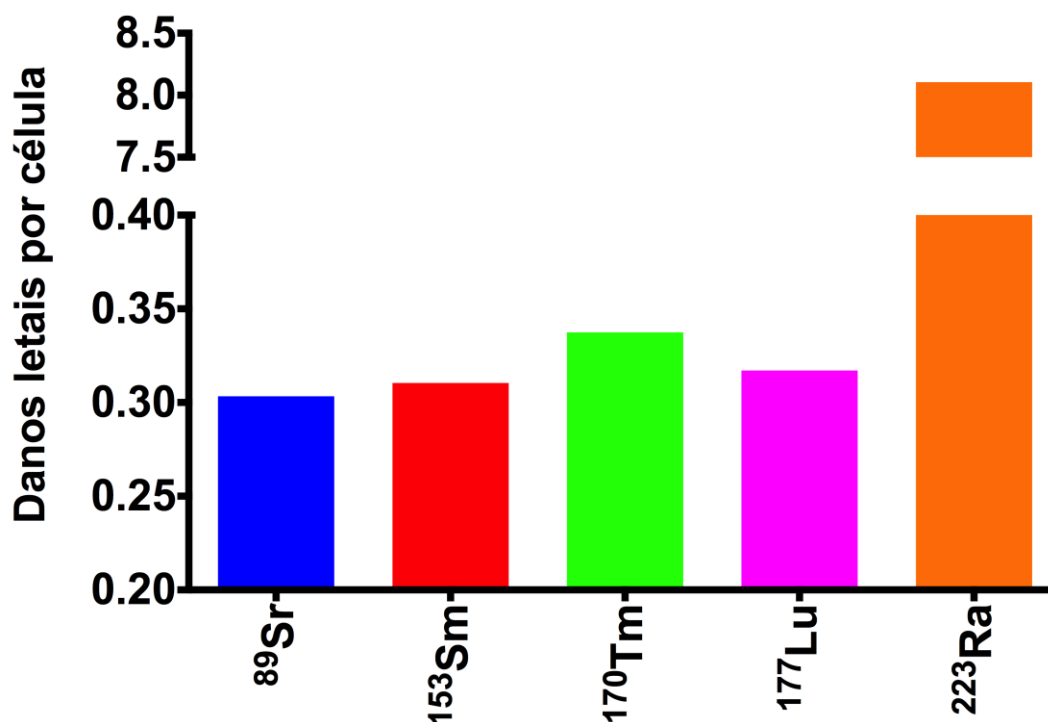


Figura 28: Média dos danos letais provocados no ADN após irradiação com os diferentes radioisótopos.

A Figura 29 e no Anexo A.4 apresentam-se os resultados da probabilidade de mutagénese e aumento da indução de instabilidade genética para diferentes agentes irradiantes. A mutagénese e aumento da instabilidade genética são definidos como: alteração da função ou expressão de pelo menos um gene crítico com consequente aumento da instabilidade genética. Estes resultados demonstram que o ^{223}Ra apresenta a probabilidade média mais reduzida de indução de mutagénese ou aumento de instabilidade genética de entre todos os radioisótopos analisados (0.00126%), os restantes radioisótopos apresentam a seguinte ordem crescente: ^{170}Tm (0.00149%) < ^{90}Y , ^{153}Sm , ^{186}Re (0.00154%) < ^{32}P , ^{89}Sr , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{188}Re (0.00155%), consultar a Tabela no anexo A.4.

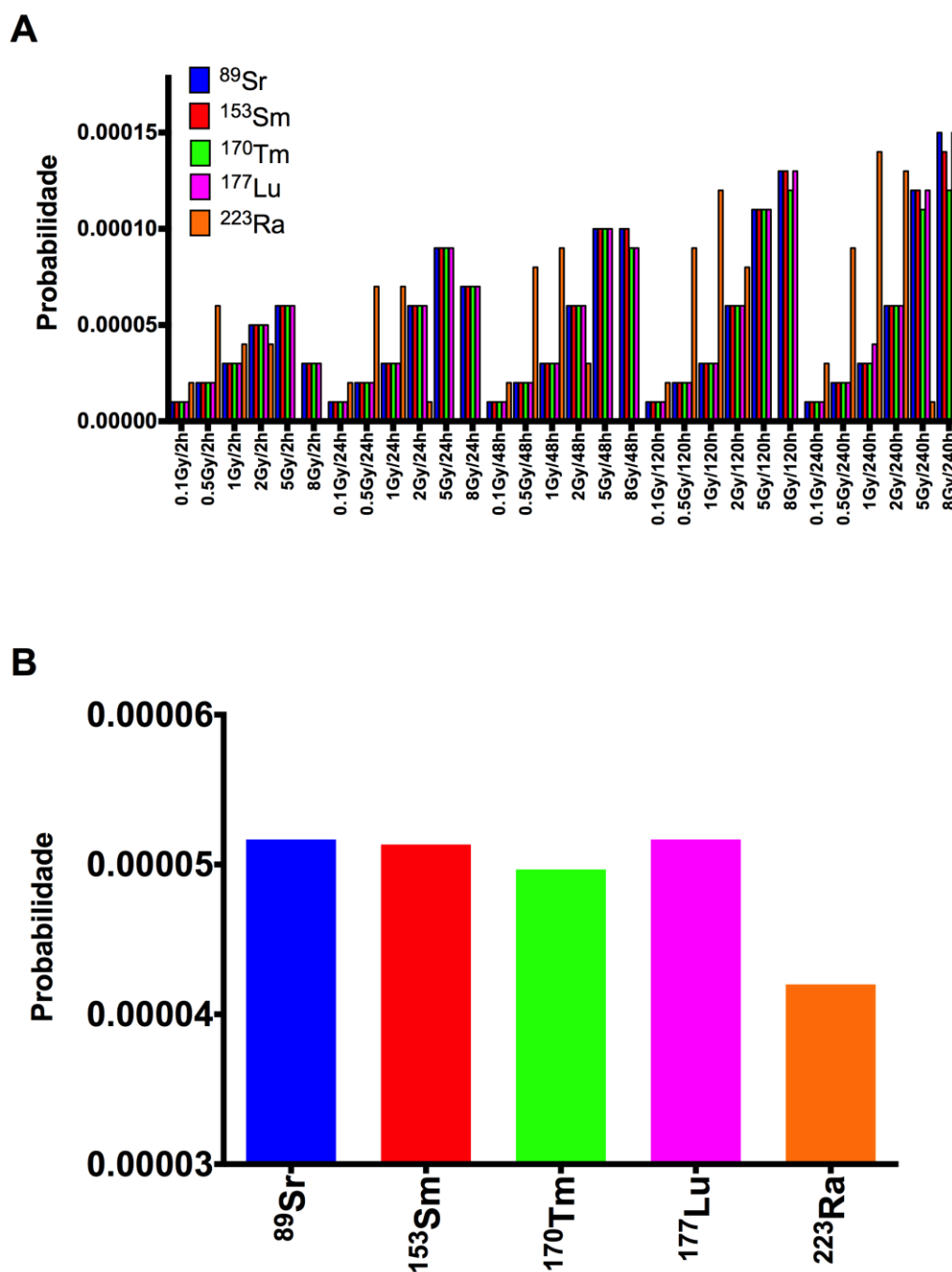


Figura 29: Probabilidade de aumento da instabilidade genética (A) e valores médios (B) da probabilidade de instabilidade genética após irradiação com os diferentes agentes.

As Figura 30 e Figura 31 e os Anexos A.5 e A.6 apresentam os resultados da frequência da transformação neoplásica por célula irradiada e por célula sobrevivente, verificando-se mais uma vez que existirem diferenças estatisticamente significativas quando comparados todos os 11 agentes ($p < 0.0001$ e $p = 0.0014$, ANOVA respetivamente), porém o mesmo não ocorre quando se excluem os valores

do ^{223}Ra ($p=0.1329$, ANOVA) para as células irradiadas. A frequência de transformação neoplásica é definida em função da dose e taxa de dose em 42 dias (parâmetro fixo do simulador). Verifica-se que o isótopo ^{89}Sr possui uma maior frequência de transformação neoplásica de células irradiadas, seguido pelo ^{153}Sm , ^{177}Lu , ^{170}Tm e por último o ^{223}Ra , Figura 30. Por outro lado nas células sobreviventes o valores máximo é atingido pelo ^{223}Ra ficando os restantes isótopos com o mesmo valor, Figura 31.

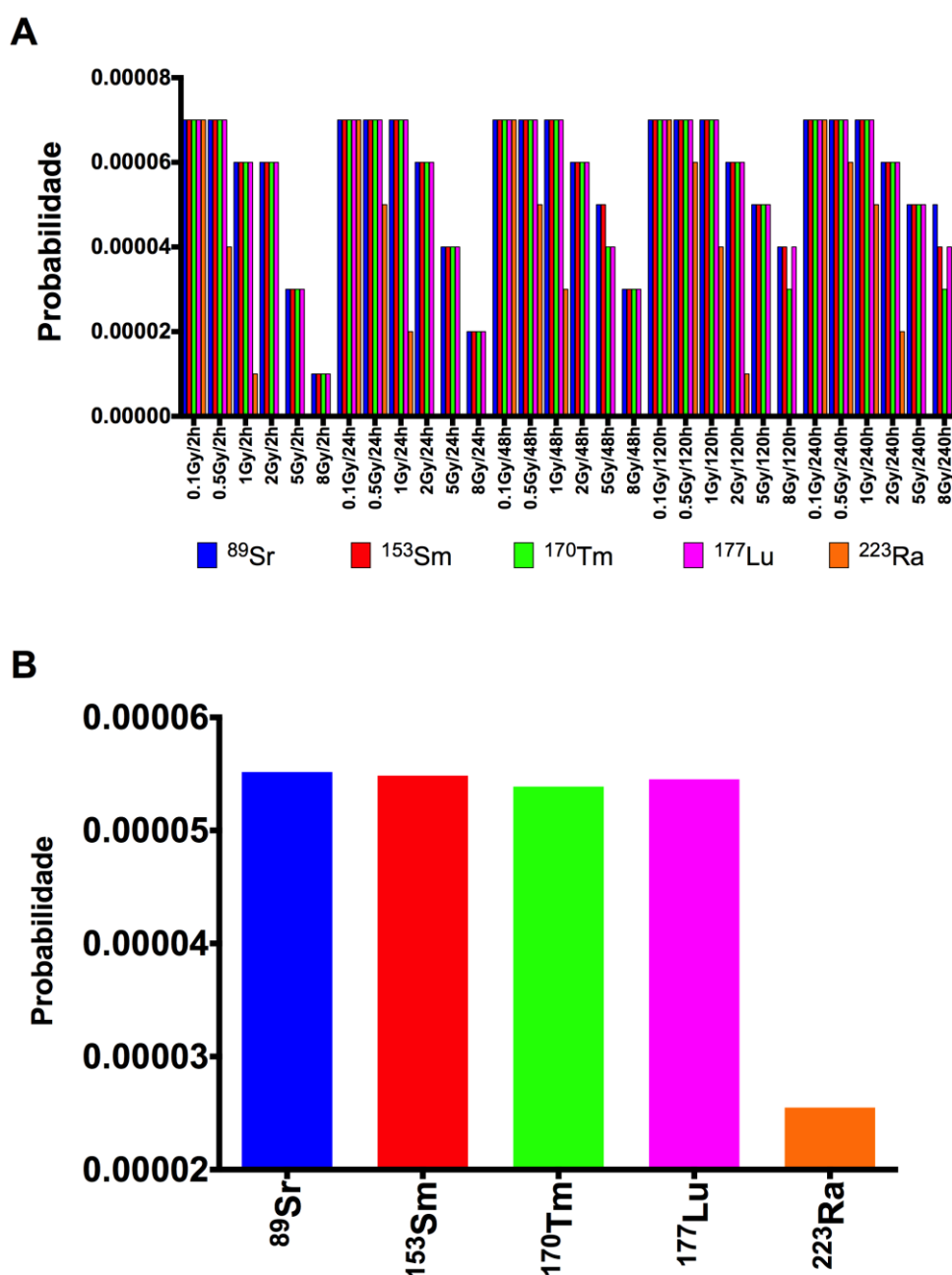


Figura 30: Frequência de transformação neoplásica (A) e valores médios de frequência de transformação neoplásica (B) em células irradiadas com diferentes agentes

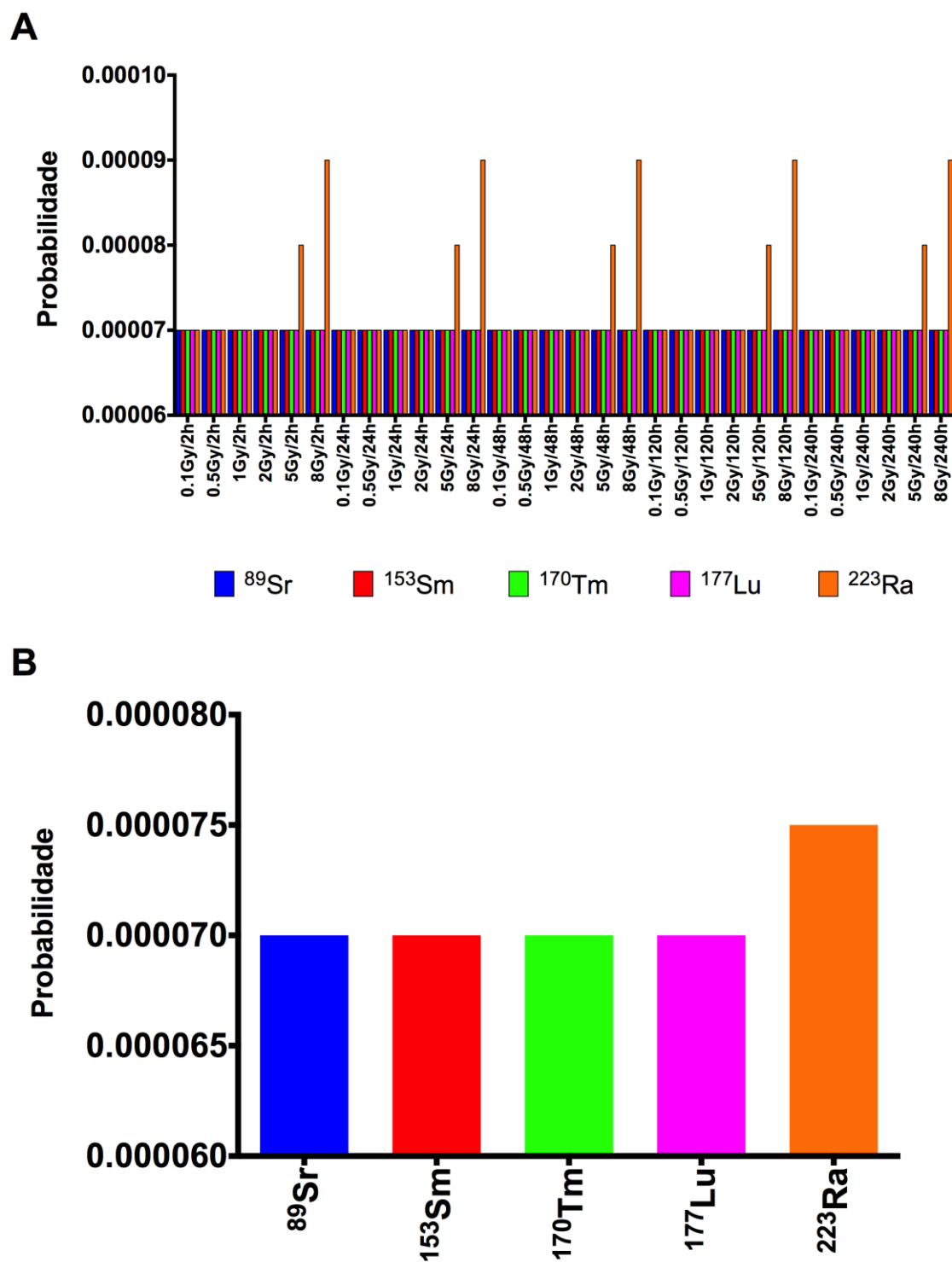


Figura 31: Frequência de transformação neoplásica (A) e valores médios de frequência de transformação neoplásica (B) nas células sobreviventes após irradiação com os diferentes agentes.

Quando todas as células irradiadas estão quiescentes, isto é, encontram-se fora do ciclo celular, não existem diferenças para o mesmo agente irradiante, entre as células normais, neoplásicas e metastáticas. Como as células não estão em

divisão, a sua resposta à irradiação é passiva, pois o número de células mortas pela radiação não considera a cinética da divisão celular (duplicação, reparações, paragens do ciclo, entre muitos outros processos) e, consequentemente, as características de radiosensibilidade próprias para cada tipo celular. Por outro lado, diferentes agentes irradiantes apresentam diferentes resultados em termos de sobrevida das células normais após irradiação ($p > 0.0001$ (teste ANOVA) e $p = 0.0053$ excluindo os dados do ^{223}Ra (teste ANOVA)). As partículas α do ^{223}Ra estudadas, em concordância com os resultados obtidos com os restantes simuladores, são os que apresentam menor número de células sobreviventes, chegando mesmo a casos de controlo tumoral, isto é, nenhuma célula da população sobreviva, consultar Tabela 23. Por outro lado, quando a população em estudo é heterogénea (células quiescentes e em ciclo), são observadas diferenças entre os diferentes agentes irradiantes bem como entre os diferentes tipos celulares. Neste caso, como parte da população está em divisão e parte está quiescente, representa de forma mais fiel o modelo real, a resposta celular à radiação é ditada pelo tipo de radiação, dose absorvida e características da cinética celular, nomeadamente, tempo de duplicação celular (T_{pot}).

Nos Anexos A.6-A.14 apresentam-se os gráficos e as tabelas com todos os resultados obtidos para os onze radioisótopos avaliados no que respeita ao número de células sobreviventes à irradiação. Na Figura 32 apresenta-se o número de células normais sobreviventes após irradiação com os 3 agentes irradiantes que apresentam a menor fração de sobrevida (^{223}Ra , ^{177}Lu e ^{170}Tm) juntamente com os 2 agentes irradiante mais comumente utilizados na prática clínica para terapia paliativa das metástases ósseas (^{153}Sm e ^{89}Sr), quando nenhuma célula está em divisão (fora do ciclo celular – fase G_0), as células encontram-se em divisão e fora do ciclo celular, representando assim uma população heterogénea e quando toda a população celular se encontra em divisão. Na Figura 33 é apresentado o número de células sobreviventes para uma população de células neoplásicas nas mesmas condições e por último na Figura 34 é apresentado o número de células sobreviventes para uma população de células metastáticas.

Tabela 23. Probabilidade de controlo tumoral após irradiação com ^{223}Ra .

Cenários de irradiação	Células Normais			Células Neoplásicas			Células Metastáticas		
	G ₀ =0	G ₀ =0.5	G ₀ =1	G ₀ =0	G ₀ =0.5	G ₀ =1	G ₀ =0	G ₀ =0.5	G ₀ =1
0.1Gy/2h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
0.5Gy/2h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
1Gy/2h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
2Gy/2h	2.9%	2.9%	2.9%	2.9%	2.7%	2.6%	2.9%	2.7%	2.6%
5Gy/2h	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
8Gy/2h	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
0.1Gy/24h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
0.5Gy/24h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
1Gy/24h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
2Gy/24h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
5Gy/24h	99%	99%	99%	99%	99%	99%	99%	99%	99%
8Gy/24h	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
0.1Gy/48h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
0.5Gy/48h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
1Gy/48h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
2Gy/48h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
5Gy/48h	99%	99%	99%	99%	99%	99%	99%	99%	99%
8Gy/48h	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
0.1Gy/120h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
0.5Gy/120h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
1Gy/120h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
2Gy/120h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
5Gy/120h	71%	71%	71%	71%	69%	68%	71%	68%	66%
8Gy/120h	99%	99%	99%	99%	99%	99%	99%	99%	99%
0.1Gy/240h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
0.5Gy/240h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
1Gy/240h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
2Gy/240h	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
5Gy/240h	0.3%	0.3%	0.3%	0.3%	0.2%	0.1%	0.3%	0.2%	0.1%
8Gy/240h	99%	99%	99%	99%	98%	98%	99%	98%	97%

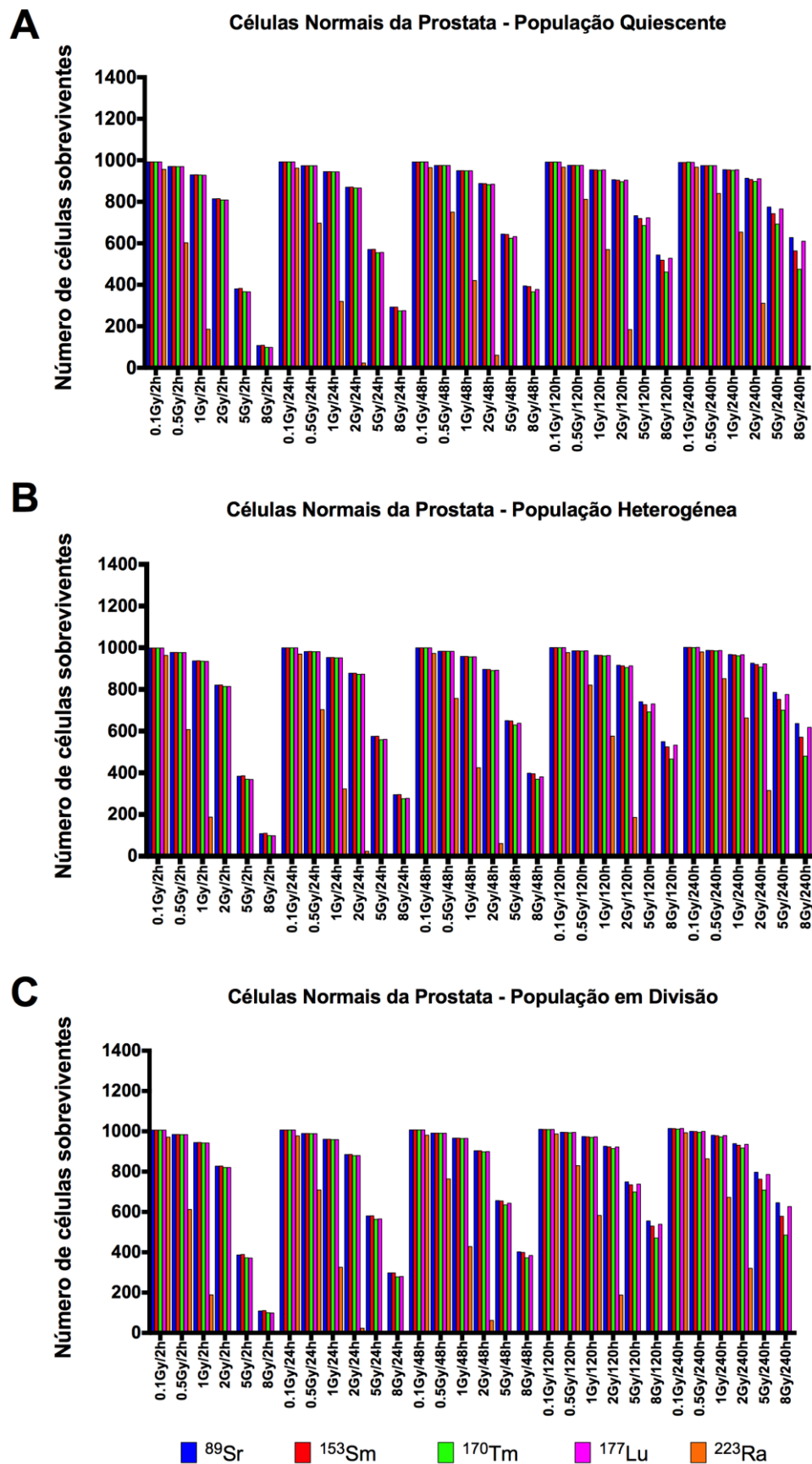


Figura 32: Comparação entre o número de células normais da próstata sobreviventes numa população quiescente (A), numa população heterogênea(B) e numa população em divisão(C).

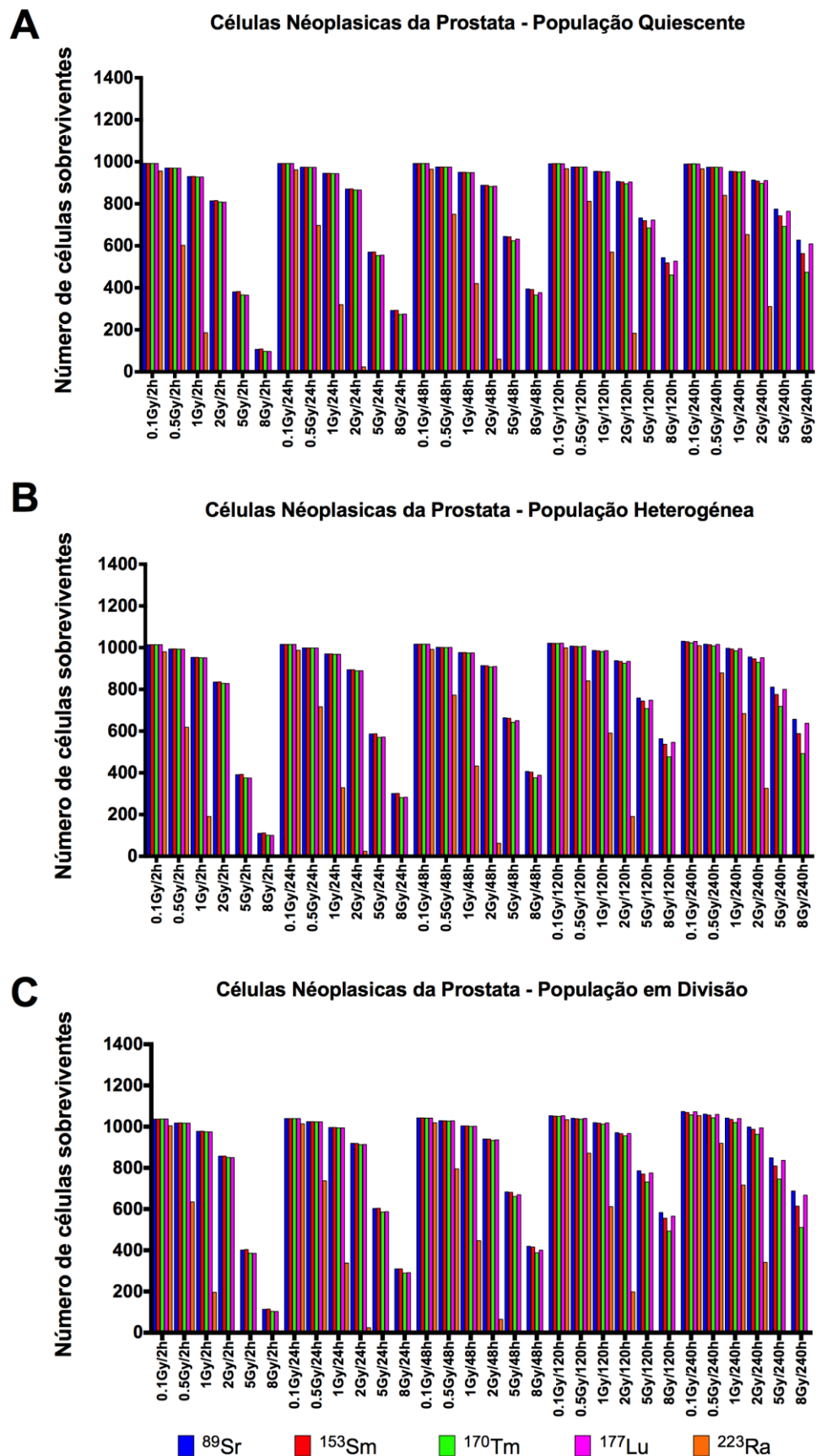


Figura 33: Comparação entre o número de células neoplásicas da próstata sobreviventes numa população quiescente (A), numa população heterogênea(B) e numa população em divisão(C).

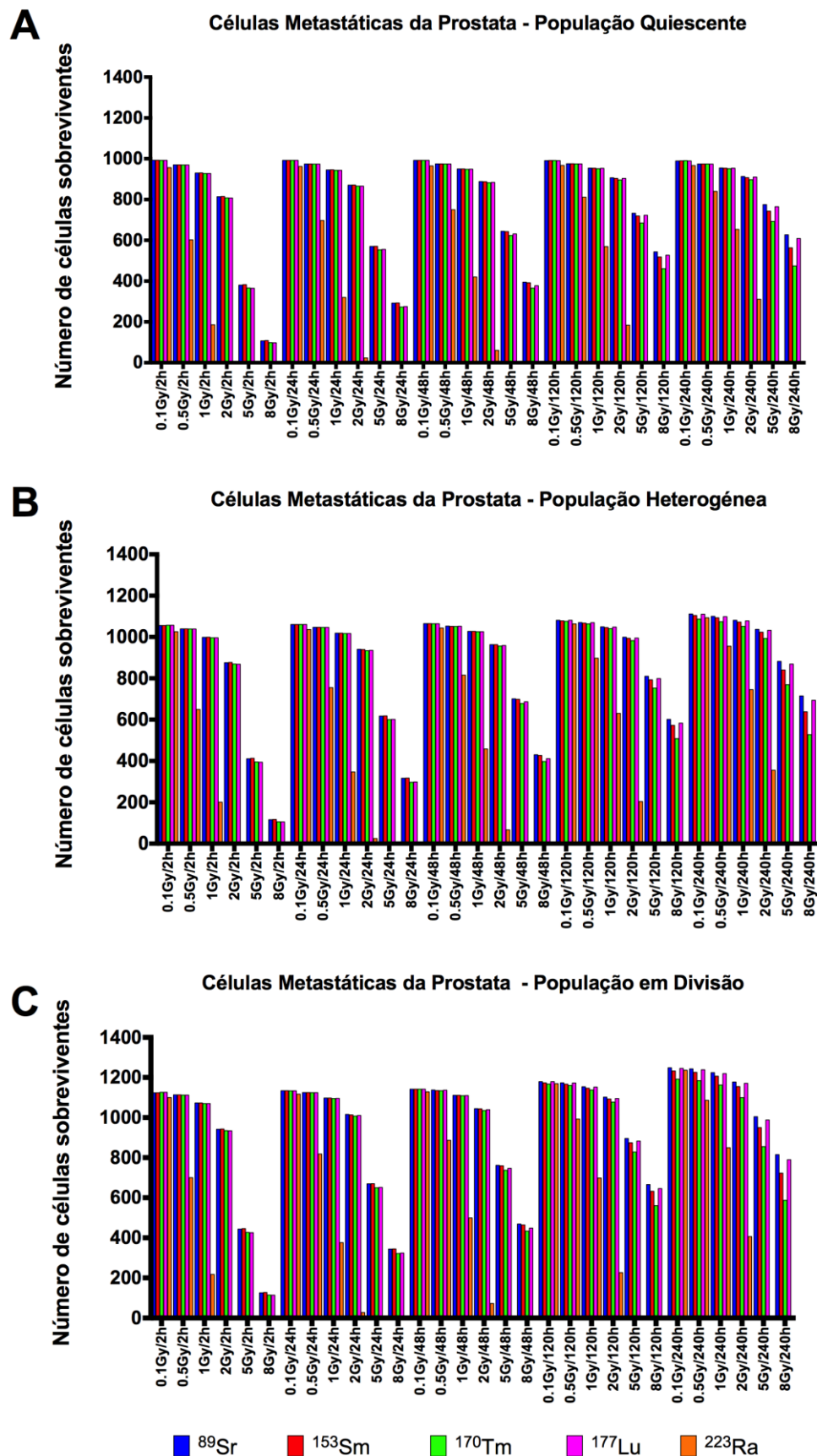


Figura 34: Comparação entre o número de células metastáticas da próstata sobreviventes numa população quiescente (A), numa população heterogênea(B) e numa população em divisão (C).

Na Figura 35 apresenta-se um resumo do número médio de células sobreviventes em função do radioisótopo utilizado e da cinética celular. Com a análise dos dados obtidos à cerca do número de células sobreviventes em cada cenário em função do radioisótopo utilizado é possível concluir que a eficiência dos isótopos na morte celular toma a seguinte ordem descendente: $^{223}\text{Ra} \gg ^{170}\text{Tm}, ^{177}\text{Lu} > ^{117\text{m}}\text{Sn} > ^{32}\text{P} > ^{89}\text{Sr}, ^{90}\text{Y}, ^{153}\text{Sm} > ^{166}\text{Ho}, ^{188}\text{Re} > ^{186}\text{Re}$. Também se observa que a eficiência de indução de morte celular do radioisótopo diminui com o aumento da fração da população em divisão. Para além disso, para as populações em que todas as células estão ativamente em divisão, verifica-se que com a diminuição do tempo de duplicação da população ocorre um aumento do número de células sobreviventes, isto é, nas células metastáticas com um $T_{\text{pot}} = 54$ horas os radioisótopos são menos eficientes que nas células normais com um $T_{\text{pot}} = 500$ horas.

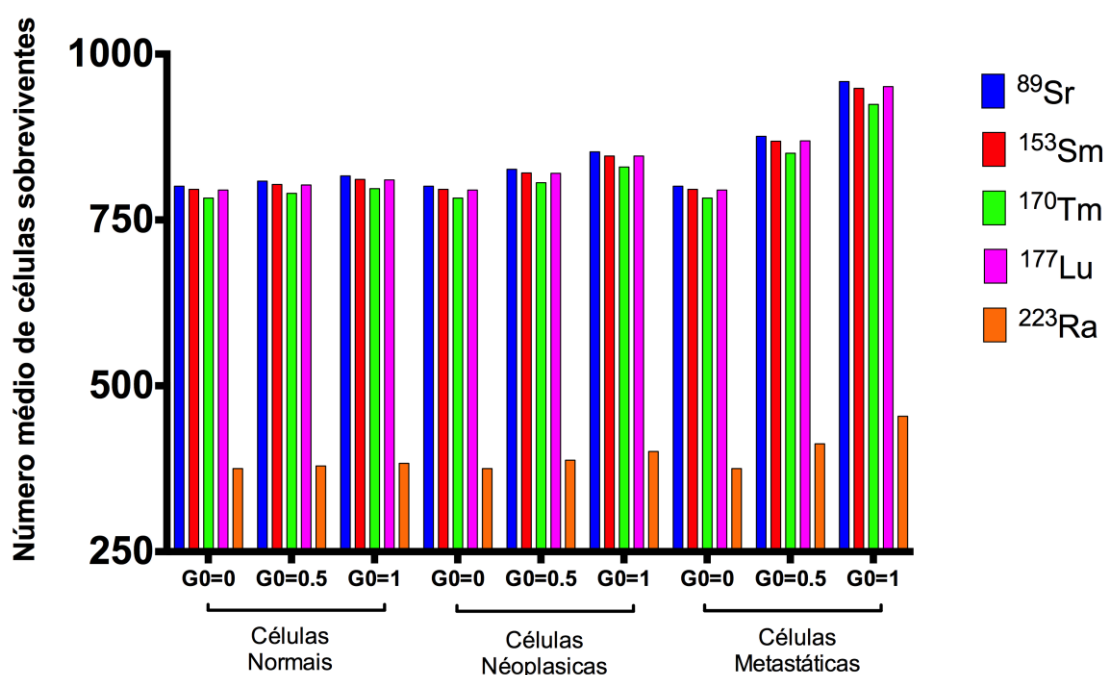


Figura 35: Número médio de células sobreviventes em função dos radioisótopos e da cinética celular.

6.6 ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os resultados obtidos pela aplicação dos diferentes simuladores computacionais possibilitaram a análise de vários parâmetros de radiobiologia e cinética celular após irradiação com diferentes partículas radioativas. A comparação,

pelo uso de métodos computacional, dos diferentes radioisótopos com fins terapêuticos tem carácter inovador e permite criar uma escala ordenada das características de emissores de partículas úteis para radioterapia, uma vez que atualmente a escolha do radioisótopo a utilizar no contexto da palição da dor óssea é frequentemente aleatória, ditada pela facilidade de acesso a um particular radioisótopo em detrimento dos restantes.

Os resultados obtidos apontam para uma ligeira superioridade do ^{170}Tm e do ^{177}Lu na indução de danos potencialmente letais em comparação com os restantes emissores de partículas β^- , nomeadamente o ^{89}Sr e o ^{153}Sm , que são os radioisótopos emissores de partículas β^- mais utilizados na prática clínica para terapia paliativa das metástases ósseas. Para além disso, conclui-se dos resultados que o ^{223}Ra apresenta uma eficiência de indução de danos muito superior relativamente a todos os radioisótopos estudados. Estes resultados são consistentes para todos processos de reparação estudados, levando a concluir que, independentemente da via utilizada para correção da lesão no ADN, a gravidade dos danos causados pelo ^{223}Ra , ^{177}Lu e ^{170}Tm , reduz a probabilidade de reparação correta e aumenta a probabilidade de mutação ou formação de DSBs. Dado que as DSB estão frequentemente associadas a apoptose, o aumento da capacidade de indução de DSBs verificado pelo simulador MCDS, associado ao aumento de conversão de lesões simples em DSBs pela falha dos mecanismos de reparação, observados pelos resultados do simulador MCER, levam a concluir que a indução de apoptose é superior para o ^{223}Ra e que os radioisótopos ^{177}Lu e ^{170}Tm apresentam valores de indução de danos superiores aos dos ^{89}Sr e ^{153}Sm . Também se sabe que o aumento do número de ciclos de reparação aumenta o tempo requerido para reparação do dano e encontra-se associado ao aumento da LET da partícula emitida. Deste modo, não é surpreendente verificar a superioridade do ^{223}Ra em comparação com os restantes radioisótopos, pois o ^{223}Ra é um emissor de partículas α , isto é, partículas de elevada LET. Estudos prévios observaram um aumento da formação de DSB enzimáticas durante o processo de reparação de danos complexos por excisão.^{127,128} Estes fatos suportam uma vez mais a superioridade dos radioisótopos ^{223}Ra , ^{177}Lu e ^{170}Tm , sugerindo que estes radioisótopos apresentam um potencial terapêutico superior aos restantes radioisótopos estudados. O ^{177}Lu em particular apresenta um elevado interesse

enquanto agente terapêutico no contexto da palição da dor óssea, dado que é de fácil produção, tem uma energia de emissão reduzida e características físicas ideais para a distribuição global. Também o ^{170}Tm , poderá ser uma alternativa ao ^{89}Sr , pois devido à sua longa semi-vida possibilita uma distribuição global mais facilitada. Contudo, um radioisótopo com curta semi-vida resulta numa libertação mais rápida de energia para as células. Por exemplo a libertação de 90% do total da dose requer aproximadamente 3.5 semi-vidas, o que corresponde a um tempo de aproximadamente 1 semana para o ^{153}Sm , 7 semanas para o ^{32}P e 25 semanas para o ^{89}Sr .⁵⁹ Assim, a longa semi-vida do ^{170}Tm pode ser desvantajosa em termos de rápida eficácia terapêutica.

Os resultados obtidos demonstram também que para o mesmo agente, o número de células que sobrevive é inferior para as células normais, seguido das células neoplásicas e por ultimo as células metastáticas. Tal pode ser explicado pelo tempo de duplicação celular muito reduzido das células metastáticas que compensa o número de células mortas pela irradiação. No caso da cinética celular das diferentes populações, conclui-se que as células quiescentes são mais sensíveis aos efeitos da radiação face às populações heterogêneas e em divisão. Mais se verifica, que nas células quiescentes, a cinética celular e o tempo de duplicação da população influencia de forma negligenciável os resultados obtidos. De notar contudo as diferenças para o mesmo tipo de irradiação em diferentes populações, o que está de acordo com o teorizado.

Os resultados do simulador VC apresentados dizem respeito a taxas de dose relativas a intervalos de exposição de 2, 24, 48, 120 e 240 h com doses de 0.1, 0.5, 1, 2, 5 e 8 Gy para cada intervalo de tempo considerado. Conforme esperado, verifica-se que para a mesma dose, a maior taxa de dose (obtida pelos diferentes intervalos de irradiação) corresponde ao maior dano celular e menor sobrevida celular. Uma análise mais detalhada da cinética celular pós irradiação com os diferentes isótopos demonstra que a resposta celular está dependente da dose e do radioisótopo. Para baixas doses de TCUTs, não correm diferenças entre o ^{170}Tm e o ^{177}Lu , contudo, para elevados valores de TCUT, a irradiação com ^{170}Tm resulta num menor numero de células sobreviventes do que quando irradiadas com ^{177}Lu . Isto presumivelmente é resultado das diferenças no valor de semi-vida física do ^{170}Tm e do ^{177}Lu (127.8 e 6.2

dias, respetivamente), que contribuirá de forma diferente para a resposta celular a diferentes taxas de dose.

Quando se analisa especificamente a probabilidade de controlo tumoral, definida como a probabilidade de nenhuma célula tumoral sobreviver após irradiação, de entre todos os radioisótopos investigados, o ^{223}Ra apresenta a maior probabilidade de sucesso, Tabela 23. Só com irradiação do ^{223}Ra em alguns cenários simulados se consegue obter controlo tumoral total. Os resultados de controlo tumoral devem ser considerados com cuidados, pois os modelos de irradiação simulados contemplam apenas uma população celular o que pode não corresponde diretamente à realidade devido a heterogeneidade celular que se verifica nos tumores reais. Estes resultados com o ^{223}Ra são consistentes com os estudos recentes realizados, que demonstraram que o $^{223}\text{RaCl}_2$ é o único radiofármaco reportado até à data que apresenta uma melhoria da esperança média de vida dos doentes oncológicos tratados.^{61,117,120,121}

Por outro lado, os simuladores forneceram resultados consistentes com as características das partículas emitidas, nomeadamente, superioridade das partículas α em induzir danos ao ADN e maior irradiação das células num menor espaço de tempo para radionuclídeos de menor semi-vida física. Os resultados recolhidos nesta Dissertação confirmam assim que a maior LET das partículas α do ^{223}Ra garante uma vantagem na capacidade de transmitir maiores quantidade de energia à célula, logo uma maior percentagem de danos complexos que levam por fim à apoptose, pois estes diminuem a capacidade da célula reparar os danos.^{39,130} Apesar de não apresentarem resultados tão animadores como os restantes radioisótopos abordados, o emissor de eletrões de Auger $^{117\text{m}}\text{Sn}$ também pode ter um potencial terapêutico a explorar, principalmente porque está associado tal como o ^{223}Ra a um poder de penetração limitado, diminuindo os efeitos na medula óssea. Contudo no caso do $^{117\text{m}}\text{Sn}$ para que este seja eficiente, a deposição de energia tem que ocorrer diretamente no núcleo, o que representa um desafio no processo de design do radiofármaco radiomarcado com $^{117\text{m}}\text{Sn}$ de forma a obter essa biodistribuição desejável.^{131,132} De facto, quando se utilizam radioisótopos cujas partículas emitidas têm curto alcance tecidual é necessário garantir uma distribuição homogénea da radiação por todo o tecido alvo, uma desvantagem que é facilmente contornada com

recurso aos emissores β^- , devido ao efeito *crossfire*, deixando de ser necessário atingir todas as células num tumor de elevado volume. Porém, os emissores β^- , dependendo do seu poder de penetração nos tecidos, poderem atingir os tecidos adjacentes, nomeadamente a medula óssea, podendo levar ao aparecimento de mielossupressão.

Para além das características radiobiológicas dos radioisótopos estudados é preciso ter em consideração também as características físicas dos mesmo, pois para assegurar a eficácia terapêutica do radiofármaco, este deve ser radiomarcado com um radioisótopo com uma semi-vida consistente com a necessidade do radiofármaco a ser preparado. Para além disso, é importante considerar os custos de produção e a possibilidade de aquisição de imagem médica. Destaca-se assim o ^{177}Lu que se apresenta como o terceiro radioisótopo com maior potencial terapêutico de entre os estudados e pode ser fácil e economicamente produzido. Se se comparar o ^{177}Lu com o ^{153}Sm verifica-se que o ^{153}Sm tem uma semi-vida mais curta que o ^{177}Lu , o que pode significar uma distribuição geográfica mais restritiva. Por seu lado, o ^{89}Sr apresenta dificuldades de produção, aumentado assim o custo do tratamento. Também se espera uma maior dose de radiação na medula óssea por parte do ^{89}Sr , devido a sua emissão β^- muito energética ($E_{\text{max}} = 1.49 \text{ MeV}$). Atendendo a que as doses de radiofármaco a administrar aos doentes para terapia das metástase ósseas estão geralmente compreendidas entre 50-70 mCi para o ^{153}Sm , tendo em consideração as menores perdas de decaimento desperdiçado e menor dose por paciente, poderá ser possível tratar até 10 vezes mais pacientes com a mesma atividade produzida de ^{177}Lu comparado com o ^{153}Sm .⁹¹ Por outro lado, cerca de 11% do decaimento radioativo do ^{177}Lu é sob a forma de raios gama, o que possibilitará a aquisição de imagem médica com maior qualidade que o ^{170}Tm (percentagem de emissão de raios gama de 11% versos 3.3% para o ^{177}Lu e ^{170}Tm , respetivamente).

6.7 SUMÁRIO

Neste capítulo expôs-se os resultados obtidos com os diferentes simuladores utilizados e os onze radioisótopos investigados: ^{32}P , ^{89}Sr , ^{90}Y , $^{117\text{m}}\text{Sn}$, ^{153}Sm , ^{166}Ho , ^{170}Tm , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re e ^{223}Ra . Com recurso a simuladores computacionais foi

possível simular os diferentes radioisótopos nas mesmas condições. Verificou-se que as partículas α do ^{223}Ra apresentavam uma maior indução de morte celular seguidas pelas partículas β^- do ^{170}Tm e do ^{177}Lu . Estes resultados também demonstram que existe maior fração de sobrevivência celular após irradiação com ^{89}Sr e ^{153}Sm , dois dos radionuclídeos mais utilizados na prática clínica, do que com o ^{223}Ra , ^{170}Tm e o ^{177}Lu .

Conclui-se assim o ^{223}Ra , ^{170}Tm e o ^{177}Lu apresentam o maior potencial para o tratamento paliativo de metástases ósseas de entre todos os radioisótopos analisados. Estes dados incentivam a realização futuros estudos comparativos dos diferentes radioisótopos *in vitro* e *in vivo*, e podem estimular a reavaliação da utilização global do ^{89}Sr e do ^{153}Sm no contexto clínico da terapia paliativa das metástases ósseas, bem como incentivar o uso do ^{223}Ra , ^{170}Tm e o ^{177}Lu neste contexto terapêutico.

No capítulo seguinte apresentam-se as conclusões finais desta Dissertação.

Capítulo 7

CONCLUSÕES FINAIS E PERSPETIVAS FUTURAS

7.1 CONCLUSÕES

O ciclo celular é uma das principais características das células e em muito influencia os efeitos da radiação no tecido biológico, tendo por isso sido exposto no capítulo 2 da presente Dissertação. As principais fases do ciclo celular são a fase G1, fase G2, fase S e mitose (M). Contudo, por vezes, quando as células sofrem agressões, por agentes irradiantes ou carcinogénicos, físicos ou químicos, um outro estágio celular verifica-se frequentemente, a fase G0, que representa um momento de paragem do ciclo celular que possibilita a recuperação dos danos sofridos, ou, quando tal não é possível, conduzirá à morte celular programada. A apoptose é uma morte celular seletiva em que a célula responde a um estímulo de morte e degrada-se em pequenas bolsas apoptóticas que são posteriormente digeridas pelos fagócitos sem resposta inflamatória. Conceitos fundamentais de radiobiologia celular, essenciais para a compreensão do tema abordado nesta Dissertação, foram também expostos no capítulo 2, juntamente com uma pequena introdução aos modelos de dose-resposta e a conceitos de radiobiologia celular. Alguns desses conceitos foram posteriormente utilizados para analisar estudos prévios dos diferentes radiofármacos em aplicações terapêuticas ou ensaios clínicos (capítulo 4), bem como para interpretar os resultados obtidos pelos simuladores (capítulo 6).

No capítulo 3 foi descrito o processo de formação de metástases ósseas, com particular ênfase nas metástases ósseas de tumores primários da próstata. O processo de metastização ocorre após a realização com sucesso das seguintes etapas: (1) crescimento e evasão do tecido original, (2) sobrevivência na circulação sanguínea, (3) extravasão da microcirculação para o tecido ósseo, (5) proliferação no osso e (6) interação com os osteoclastos e osteoblastos. Neste capítulo concluiu-se que o potencial mecanismo inerente à elevada frequência de ocorrência das metástases ósseas assenta no facto do tecido ósseo ser fortemente irrigado e conter uma grande quantidade de fatores de crescimento, que influenciam as células tumorais a iniciar um ciclo vicioso de alteração do metabolismo ósseo. Neste capítulo apresentou-se ainda uma síntese dos principais sintomas das metástases ósseas, principais métodos de deteção e por último modalidades de tratamento

disponíveis, dos quais se destaca a terapia paliativa com radiofármacos, que é o tema principal desta Dissertação.

No capítulo 4 descreveu-se o uso de diversos radiofármacos para o tratamento paliativo de metástases ósseas, sendo feito uma revisão das características físicas dos radioisótopos com potencial para o tratamento paliativo da patologia. A destacar o poder de penetração das partículas emitidas por diferentes radioisótopos que vai desde menos de 0.1 mm no caso do ^{223}Ra até 12 mm no caso do ^{90}Y , e a gama de energias médias das partículas emitidas que varia entre 0.127 MeV no caso das eletrões do $^{117\text{m}}\text{Sn}$ até 5.78 MeV no caso das partículas α do ^{223}Ra . Também se destaca que apenas o $^{223}\text{RaCl}_2$, o $^{153}\text{Sm-EDTMP}$ e o cloreto de ^{89}Sr detêm atualmente aprovação pela FDA e o $^{188}\text{Re-EDTMP}$ aprovação na Agência Europeia dos Medicamentos (EMA, *European Medicines Agency*). De entre os resultados de ensaios clínicos e tratamentos com recurso a radiofármacos é possível concluir que o efeito secundário mais frequentemente associado à terapia com radiofármacos e que resulta da exposição da medula óssea à energia ionizante é a mielosupressão, sendo esta dependente do radiofármaco e da dose administrada. Para além disso, verificou-se que de uma forma geral, a taxa de resposta ao tratamento paliativo da dor óssea com radiofármacos ronda em média os 75%.

Com o objetivo de avaliar o potencial terapêutico de diferentes radioisótopos, realizaram-se, nesta Dissertação, estudos de radiobiologia celular com recurso a métodos computacionais expostos no capítulo 5. A metodologia selecionada consistiu no uso de três simuladores dos efeitos da radiação ionizante no ADN e em três tipos de células (células normais da próstata, células da próstata com perfil neoplásico e células da próstata com fenótipo metastático). O simulador MCDS destinava-se ao estudo das diferentes radiações emitidas por cada radioisótopo no ADN. O simulador MCER analisou os diferentes métodos de reparação do ADN (expostos no capítulo 2) e a consequente probabilidade de reparação correta, mutada ou evolução para DSB. O simulador VC é um simulador de radiobiologia celular para o estudo dos efeitos terapêuticos de diferentes radioisótopos, incluindo probabilidade de mutagénese e instabilidade genética, probabilidade de controlo tumoral e fração de sobrevida celular.

Os principais objetivos desta Dissertação incluíam a caracterização da natureza dos efeitos produzidos pelos diferentes radioisótopos nas células selecionadas, que tentam reproduzir o modelo real de forma fiel e a obtenção dos dados necessários para a caracterização do potencial de cada um dos radioisótopos estudado. Estes objetivos foram cumpridos e os resultados permitem concluir que o ^{223}Ra é o radioisótopo com maior potencial e o único com possibilidade de controlo tumoral. Os resultados nesta Dissertação sugerem ainda que o ^{177}Lu e o ^{170}Tm têm potencial terapêutico, o qual é superior aos radioisótopos utilizados na atualidade na prática clínica, nomeadamente, o ^{153}Sm e o ^{89}Sr .

7.2 PERSPETIVAS FUTURAS

Apesar da abordagem global e implementada ao longo desta Dissertação produzir resultados bastante satisfatórios e promissores, a mesma pode ser enriquecida e melhorada, nomeadamente, nos seguintes pontos:

- Extensão do estudo a células que estão expostas a radiação durante o tratamento de metástases ósseas, tais como os osteoblastos, osteoclastos e células da medula óssea.
- Comparação dos resultados obtidos por meio de métodos computacionais com estudos laboratoriais, dado que no âmbito desta Dissertação utilizou-se métodos computacionais para avaliar o potencial dos radioisótopos, os quais são rápidos e simples, possibilitando a modelização de processos biológicos, com vista da optimização dos tratamentos. Contudo, apesar de muito úteis numa abordagem inicial do problema, estes métodos devem ser correlacionados com estudos laboratoriais, para maior validação dos resultados. Alguns destes estudos de correlação já foram realizados (ver capítulo 4), mas nem todos foram avaliados e, portanto é importante que se proceda a esta validação em trabalhos futuros.

Referencias Bibliográficas

1. Maini CL, Sciuto R, Romano L, Bergomi S. Radionuclide therapy with bone seeking radionuclides in palliation of painful bone metastases. *J Exp Clin Cancer Res*. 2003;22(4 Suppl):71-4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16767910>.
2. Stewart BW, Wild CP. *World Cancer Report 2014*. (Stewart, B. W., Wild CP, ed.). IARC Nonserial Publication; 2014:630.
3. Alexandre A, Tavares S. Análise dos Efeitos Terapêuticos dos Electrões de Auger em Culturas de Células. 2009.
4. Park M-T, Lee S-J. Cell Cycle and Cancer. *J Biochem Mol Biol*. 2003;36(1):60-65. doi:10.5483/BMBRep.2003.36.1.060.
5. Stewart B, Kleihues P. New International Agency for Research on Cancer. *Int Rev Red Cross*. 2003;12(138):527. doi:10.1017/S0020860400079146.
6. Sherr CJ. Cancer cell cycles. *Science*. 1996;274(5293):1672-7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10919634>.
7. Agency IAE. *Radiation Biology : A Handbakk for Teachers and Students*. Vienne; 2010.
8. Wang C, Wang J, Jiang H, Zhu M, Chen B, Bao W. In vitro study on apoptosis induced by strontium-89 in human breast carcinoma cell line. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:541487. doi:10.1155/2011/541487.
9. Jackson MR, Falzone N, Vallis K a. Advances in anticancer radiopharmaceuticals. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2013;25(10):604-9. doi:10.1016/j.clon.2013.06.004.
10. Nelson GA. FUNDAMENTAL SPACE RADIOBIOLOGY Gregory A. Nelson. *Gravitational Sp Biol Bull*. 2003;16:29-36.
11. Botelho MF. Radiobiologia. *Matérial Didat da UNidade Biofísica da Univ Coimbra*. 2012.
12. Moreira A. Radiobiologia – efeito das radiações ionizantes na célula – e formas de protecção das radiações ionizantes. 2011.
13. Nikjoo H. Radiation track and DNA damage. *Iran J Radiat Res*. 2003;1(1):3-16.
14. Klein C a. Parallel progression of primary tumours and metastases. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(4):302-12. doi:10.1038/nrc2627.

15. Suntharalingam N, Hendry J., Podgorsak E. BASIC RADIOBIOLOGY - Chapter 14. :485-504. Available at: <http://www-naweb.iaea.org/nahu/DMRP/documents/Chapter14.pdf>.
16. Helleday T, Lo J, van Gent DC, Engelward BP. DNA double-strand break repair: from mechanistic understanding to cancer treatment. *DNA Repair (Amst)*. 2007;6(7):923-35. doi:10.1016/j.dnarep.2007.02.006.
17. Blakely E, Lommel L, Chang P, et al. Cell-cycle radiation response: Role of intracellular factors. *Adv Sp Res*. 1989;9(10):177-186.
18. Wilson JW, Cucinotta FA, Shinn JL. Multiple Lesion Track Structure Model. *Nasa Tech Pap*. 1992;(3185).
19. Nikjoo H, Uehara S, Wilson WE, Hoshi M, Goodhead DT. Track structure in radiation biology: theory and applications. *Int J Radiat Biol*. 1998;73(4):355-64. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9587072>.
20. Guerrero M, Stewart RD, Wang JZ, Li XA. Equivalence of the linear-quadratic and two-lesion kinetic models. *Phys Med Biol*. 2002;47(17):3197-209. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12361218>.
21. Carlson DJ, Stewart RD, Li XA, Jennings K, Wang JZ, Guerrero M. Comparison of in vitro and in vivo alpha/beta ratios for prostate cancer. *Phys Med Biol*. 2004;49(19):4477-4491. doi:10.1088/0031-9155/49/19/003.
22. Sach RKS, Feld PHAHN, Er DJB. Review The link between low -LET dose-response relations and the underlying kinetics of damage production / repair / misrepair. *Int J Radiat Biol*. 1997;72(4):351-374.
23. Sartor O, Hoskin P, Bruland OS. Targeted radio-nuclide therapy of skeletal metastases. *Cancer Treat Rev*. 2013;39(1):18-26. doi:10.1016/j.ctrv.2012.03.006.
24. Sterling J a, Edwards JR, Martin TJ, Mundy GR. Advances in the biology of bone metastasis: how the skeleton affects tumor behavior. *Bone*. 2011;48(1):6-15. doi:10.1016/j.bone.2010.07.015.
25. Mundy GR. Metastasis: Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:584-593.
26. Tantinejku K, Kalikin LM, Pienta KJ. Dynamic process of prostate cancer metastasis to bone. *J Cell Biochem*. 2004;91(4):706-17. doi:10.1002/jcb.10664.
27. Stewart BW, Kleihues P. New International Agency for Research on Cancer. *Int Rev Red Cross*. 2010;12(138):527. doi:10.1017/S0020860400079146.

28. Roodman GD. Mechanisms of bone metastasis. *N Engl J Med*. 2004;350(16):1655-64. doi:10.1056/NEJMra030831.
29. Wells A. *Cell Motility in Cancer Invasion and Metastasis*. (Ablin R, Jiang W, eds.). Springer; 2006:360.
30. Kaplan RN, Psaila B, Lyden D. Bone marrow cells in the “pre-metastatic niche”: within bone and beyond. *Cancer Metastasis Rev*. 2006;25(4):521-9. doi:10.1007/s10555-006-9036-9.
31. Meo has W, Probstner D, André R, et al. Metástase óssea : revisão da literatura Bone metastases : literature review. *Rev Bras Cancerol*. 2005;51(1):43-47.
32. Singh G, Rabbani SA. *Bone Metastasis Experimental and Clinical Therapeutics*. New Jersey: Humana Press; 2005:344.
33. Bedi M, King DM, Tutton S. Minimally Invasive Local Treatments for Bone and Pulmonary Metastases. *Minim Invasive Surg*. 2014:1-9. doi:10.1155/2014/719394.
34. Soares CR, Shibata M, Green JE, Jorcyk CL. Development of PIN and Prostate Adenocarcinoma Cell Lines : A Model System for Multistage Tumor Progression 1. *Neoplasia*. 2002;4(2):112-120. doi:10.1038/sj/neo/7900210.
35. Saarto T, Janes R, Tenhunen M, Kouri M. Palliative radiotherapy in the treatment of skeletal metastases. *Eur J Pain*. 2002;6(5):323-330. doi:10.1016/S1090-3801(02)00028-9.
36. Coleman RE. Management of Bone Metastases. *Oncologist*. 2000;5:463-470.
37. Saylor PJ, Lee RJ, Smith MR. Emerging therapies to prevent skeletal morbidity in men with prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2011;29(27):3705-14. doi:10.1200/JCO.2010.34.4994.
38. El-Amm J, Freeman A, Patel N, Aragon-Ching JB. Bone-Targeted Therapies in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Evolving Paradigms. *Prostate Cancer*. 2013. doi:10.1155/2013/210686.
39. Das T, Pillai MR a. Options to meet the future global demand of radionuclides for radionuclide therapy. *Nucl Med Biol*. 2013;40(1):23-32. doi:10.1016/j.nucmedbio.2012.09.007.
40. Hoefnagel C. Radionuclide cancer therapy. *Ann Nucl Med*. 1998;12(2):61-70.
41. Bączyk M. Radioisotope therapy of bone metastases. *Nucl Med Rev Cent East Eur*. 2011;14(2):96-104. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22219150>.

42. Dna A. Bone Metastasis What is cancer ? Metastatic cancer. *Am Cancer Soc.* 2012.
43. Vukmirovic-Popovic S, Colterjohn N, Lhoták S, Duivenvoorden WCM, Orr FW, Singh G. Morphological, histomorphometric, and microstructural alterations in human bone metastasis from breast carcinoma. *Bone.* 2002;31(4):529-35. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12398951>.
44. Guise T a, Mohammad KS, Clines G, et al. Basic mechanisms responsible for osteolytic and osteoblastic bone metastases. *Clin cancer Res.* 2006;12(20):6213s-6216s. doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-1007.
45. Clezardin P, Teti A. Bone metastasis: pathogenesis and therapeutic implications. *Clin Exp Metastasis.* 2007;24(8):599-608. doi:10.1007/s10585-007-9112-8.
46. Roato I. Interaction among cells of bone, immune system, and solid tumors leads to bone metastases. *Clin Dev Immunol.* 2013;315024. doi:10.1155/2013/315024.
47. Werahera PN, Glode LM, La Rosa FG, et al. Proliferative tumor doubling times of prostatic carcinoma. *Prostate Cancer.* 2011;2011(1):301850. doi:10.1155/2011/301850.
48. Haustermans K, Hofland I, Van Poppel H, et al. Cell kinetic measurements in prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biolo Phys.* 1997;37(5):1067-1070.
49. Berges RR, Vukanovic J, Epstein JI, et al. Implication of cell kinetic changes during the progression of human prostatic cancer. *Clin Cancer Res.* 1995;1(5):473-80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9816006>.
50. Edition S. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy.* Sixth Edit. (Saha G, ed.). New York: Springer; :427. doi:10.1007/978 1 4419 5860 0.
51. Stanciu A. Radionuclides in targeted therapy of cancer. *Rev Roum Chim.* 2012;57:5-13.
52. Neves M, Kling a., Oliveira a. Radionuclides used for therapy and suggestion for new candidates. *J Radioanal Nucl Chem.* 2005;266(3):377-384. doi:10.1007/s10967-005-0920-5.
53. Sivaprasad N, Rajagopal G. Radiopharmaceuticals for Cancer Therapy. *Pharma Times.* 2012;44(04):26-29.
54. Das T, Chakraborty S, Sarma HD, et al. (170)Tm-EDTMP: a potential cost-effective alternative to (89)SrCl(2) for bone pain palliation. *Nucl Med Biol.* 2009;36(5):561-8. doi:10.1016/j.nucmedbio.2009.02.002.

55. Bouchet LG, Bolch WE, Goddu SM, Howell RW, Rao D V. Considerations in the selection of radiopharmaceuticals for palliation of bone pain from metastatic osseous lesions. *J Nucl Med*. 2000;41(4):682-7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10768569>.
56. Liepe K, Runge R, Kotzerke J. The benefit of bone-seeking radiopharmaceuticals in the treatment of metastatic bone pain. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2005;131(1):60-6. doi:10.1007/s00432-004-0625-0.
57. Silberstein EB. Systemic Radiopharmaceutical Therapy of Painful Osteoblastic Metastases. *Semin Radiat Oncol*. 2000;3(3):240-249.
58. Goyal J, Antonarakis ES. Bone-targeting radiopharmaceuticals for the treatment of prostate cancer with bone metastases. *Cancer Lett*. 2012;323(2):135-146. doi:10.1016/j.canlet.2012.04.001.
59. Sartor O. Overview of samarium sm 153 lexitronam in the treatment of painful metastatic bone disease. *Rev Urol*. 2004;6 Suppl 10:S3-S12. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1472939&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
60. Chakraborty S, Das T, Sarma HD, Venkatesh M, Banerjee S. Comparative studies of ¹⁷⁷Lu-EDTMP and ¹⁷⁷Lu-DOTMP as potential agents for palliative radiotherapy of bone metastasis. *Appl Radiat Isot*. 2008;66(9):1196-205. doi:10.1016/j.apradiso.2008.02.061.
61. Harrison MR, Wong TZ, Armstrong AJ, George DJ. Radium-223 chloride: a potential new treatment for castration-resistant prostate cancer patients with metastatic bone disease. *Cancer Manag Res*. 2013;5:1-14. doi:10.2147/CMAR.S25537.
62. Bé M, Chisté V, Duliéu C, et al. Table of Radionuclides. *Bur Int des Poids Mes*. 2008;1-6.
63. Vimalnath K V, Shetty P, Chakraborty S, et al. Practicality of Production of ³²P by Direct Neutron Activation for Its Utilization in Bone Pain Palliation. *Cancer Biother Radiopharm*. 2013;00(00):0-5. doi:10.1089/cbr.2012.1335.
64. Lewington VJ. Bone-seeking radionuclides for therapy. *J Nucl Med*. 2005;46 Suppl 1(1):38S-47S. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16767910>.
65. Silberstein EB. Silberstein, E. B. (2005). Teletherapy and radiopharmaceutical therapy of painful bone metastases. *Seminars in Nuclear Medicine*, 35(2), 152–8. doi:10.1053/j.semnuclmed.2004.11.006 Teletherapy and radiopharmaceutical therapy of painful bone metastases. *Semin Nucl Med*. 2005;35(2):152-8. doi:10.1053/j.semnuclmed.2004.11.006.

66. International Atomic Energy Agency. *Therapeutic applications of radiopharmaceuticals.*; 2001:347.
67. Nilsson S, Strang P, Ginman C, et al. Palliation of bone pain in prostate cancer using chemotherapy and strontium-89. A randomized phase II study. *J Pain Symptom Manage.* 2005;29(4):352-7. doi:10.1016/j.jpainsymman.2004.07.008.
68. Reddy EK, Robinson RG, Mansfield CM. Strontium 89 for palliation of bone metastases. *J Natl Med Assoc.* 1986;78(1):27-32. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2571189&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
69. Nilsson S, Strang P, Ginman C, Nordstro B. Palliation of Bone Pain in Prostate Cancer Using Chemotherapy and Strontium-89 . A Randomized Phase II Study. 2005;29(4):352-357. doi:10.1016/j.jpainsymman.2004.07.008.
70. 90Sr-90Y biokinetics at incorporation determine the radiation burden to PubMed Commons. 2000:10927862.
71. Sohaib M, Ahmad M, Jehangir M, Yousuf M, Perveen A. Comparison of animal biodistribution of EDTMP labeled with various beta emitting lanthanides. *J Nucl Med.* 2007;48(2):135.
72. Keeling AA, Vaughan ATM, Beaney RP. Yttrium-90-EDTMP: a radiotherapeutic agent in the treatment of leukaemias. *Br J Cancer.* 1989;60:74-78.
73. Ogawa K, Kawashima H, Shiba K, et al. Development of [(90) Y] DOTA-conjugated bisphosphonate for treatment of painful bone metastases . PubMed Commons. *Nucl Med Biol.* 2009;36(2):129-35. doi:10.1016/j.nucmedbio.2008.11.007.Development.
74. Rosch F, Herzog H, Plag C, et al. Radiation doses of yttrium-90 citrate and yttrium-90 EDTMP as determined via analogous yttrium-86 complexes and positron emission PubMed Commons. *Eur J Nucl Med.* 1996;23(8):958-66.
75. Maslov OD, Starodub GY, Vostokin GK, et al. Production of Sn with high specific activity by cyclotron. *Appl Radiat Isot.* 2011:1-4. doi:10.1016/j.apradiso.2011.02.031.
76. Srivastava SC, Atkins HL, Krishnamurthy GT, et al. Treatment of metastatic bone pain with tin-117m Stannic diethylenetriaminepentaacetic acid: a phase I/II clinical study. *Clin Cancer Res.* 1998;4(1):61-8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9516953>.
77. Gerbail K, Fayes S, Suresh S, et al. Tin- 117m (4 +) DTPA : Pharmacokinetic s and Imaging Characteristics in Patients with metastatic bone pain. *J Nucl Med.* 1997;38(2):230-237.

78. Bahrami-samani A, Ghannadi-maragheh M, Jalilian AR. Production , Quality Control and Biological Evaluation of Sm-EDTMP in Wild-Type Rodents. *Iran J Radiat Res*. 2009;17(2):12-19.
79. Resche I, Chatal J, Pecking A, et al. A Dose-controlled Study of 15 ' Sm-Ethylenediaminetetramethylenephosphonate (EDTMP) in the Treatment of Patients with Painful Bone Metastases. *Eur J Cancer*. 1997;8049(97):1583-1591.
80. Vigna L, Matheoud R, Ridone S, et al. Characterization of the [(153)Sm]Sm-EDTMP pharmacokinetics and estimation of radiation absorbed dose on an individual basis. *Phys Med*. 2011;27(3):144-52.
doi:10.1016/j.ejmp.2010.08.001.
81. Alberts a S, Smit BJ, Louw WK, et al. Dose response relationship and multiple dose efficacy and toxicity of samarium-153-EDTMP in metastatic cancer to bone. *Radiother Oncol*. 1997;43(2):175-9. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9192964>.
82. Simón J, Frank RK, Crump DK, Erwin WD, Ueno NT, Wendt RE. A preclinical investigation of the saturation and dosimetry of 153Sm-DOTMP as a bone-seeking radiopharmaceutical. *Nucl Med Biol*. 2012;39(6):770-6.
doi:10.1016/j.nucmedbio.2011.12.015.
83. Ñ EG, Stradiotto M. A statistical analysis of the initial biodistribution of Sm-EDTMP in a canine. *Appl Radiat Isot*. 2005;63:79-85.
doi:10.1016/j.apradiso.2005.01.006.
84. Viña JC. Metastatic Bone Pain Management with Radioactive Isotopes. *Brazilian Arch Biol Technol*. 2005;48(October):127-135.
85. Volkert W a, Hoffman TJ. Therapeutic radiopharmaceuticals. *Chem Rev*. 1999;99(9):2269-92. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11749482>.
86. Rajendran JG, Eary JF, Bensinger W, Durack LD, Vernon C, Fritzberg A. High-Dose 166Ho-DOTMO in Myeloblastic Treatment of Multiple Myeloma : Pharmacokinetics , Biodistribution , and Absorbed Dose Estimation. *J Nucl Med*. 2002;43:1383-1390.
87. Breitz HB, Iii REW, Stabin MS, et al. 166Ho-DOTMP Radiation-Absorbed Dose Estimation for Skeletal Targeted Radiotherapy. *J Nucl Med*. 2006;47:534-542.
88. Champlin R, Booser D, Rondon G, Williams P. Targeted Radiotherapy to the Skeleton Using 166Ho-DOTMP with Autologous Ste ... Targeted Radiotherapy to the Skeleton Using 166Ho-DOTMP with Autologous Stem Cell Transplantation for Patients with Bone-Only Metastatic Breast Cancer . *Blood (ASH Annu Meet Abstr*. 2004.

89. Amani ABA, Agheri RB, Alilian ARJ, Ra SH, Aragheh MGH, Hamsaee MS. Production , Quality Control and Pharmacokinetic Studies of Ho-EDTMP for Therapeutic Applications. *Sci Pharm*. 2010;78:423-433. doi:10.3797/scipharm.1004-21.
90. Zolghadri S, Jalilian AR, Naseri Z, et al. Production , Quality Control and Biological Evaluation of 166 Ho-PDTMP as a Possible Bone Palliation Agent. *Iran J Basic Med Sci*. 2013;16:719-725.
91. Pillai MR a., Chakraborty S, Das T, Venkatesh M, Ramamoorthy N. Production logistics of 177Lu for radionuclide therapy. *Appl Radiat Isot*. 2003;59(2-3):109-118. doi:10.1016/S0969-8043(03)00158-1.
92. Bryan JN, Bommarito D, Kim DY, et al. Comparison of systemic toxicities of 177Lu-DOTMP and 153Sm-EDTMP administered intravenously at equivalent skeletal doses to normal dogs. *J Nucl Med Technol*. 2009;37(1):45-52. doi:10.2967/jnmt.108.054700.
93. Abbasi IA. Studies on 177Lu-labeled methylene diphosphonate as potential bone-seeking radiopharmaceutical for bone pain palliation. *Nucl Med Biol*. 2011;38(3):417-25. doi:10.1016/j.nucmedbio.2010.09.013.
94. Abbasi IA. Preliminary studies on (177)Lu-labeled sodium pyrophosphate (177Lu-PYP) as a potential bone-seeking radiopharmaceutical for bone pain palliation. *Nucl Med Biol*. 2012;39(6):763-9. doi:10.1016/j.nucmedbio.2012.02.001.
95. Máthé D, Balogh L, Polyák A, et al. Multispecies animal investigation on biodistribution, pharmacokinetics and toxicity of 177Lu-EDTMP, a potential bone pain palliation agent. *Nucl Med Biol*. 2010;37(2):215-26. doi:10.1016/j.nucmedbio.2009.09.004.
96. Daha FJ, Shafiei M, Sheibani S, et al. Production of 177 Lu and formulation of Ethylene diamine tetramethylene phosphonate (EDTMP) kits as a bone-seeking radiopharmaceutical. *Iran J Radiat Res*. 2010;7(4):229-234.
97. Bahrami-samani A, Anvari A, Reza A, Shirvani-arani S, Yousefnia H. Production , Quality Control and Pharmacokinetic Studies of Lu-EDTMP for Human Bone Pain Palliation Therapy Trials. *Iran J Pharm Res*. 2012;11(August 2011):137-144.
98. Bryan JN, Bommarito D, Kim DY, et al. Comparison of Systemic Toxicities of 177 Lu- DOTMP and 153 Sm-EDTMP Administered Intravenously at Equivalent Skeletal Doses to Normal Dogs. :45-52. doi:10.2967/jnmt.108.054700.
99. Saeed S, Zaknun J, Jameel G, et al. 177Lu-EDTMP for bone pain palliation in patients with bone metastases : Pharmacokinetics and toxicity evaluation using dose escalation schedule. *J Nucl Med*. 2012;53(1):1211.

100. Shinto A, Shibu D, Kamaleshwaran K, et al. ^{177}Lu -EDTMP for treatment of bone pain in patients with disseminated skeletal metastases . PubMed Commons. *J Nucl Med Technol*. 2014;42(1):55-61.
101. Yuan J, Liu C, Liu X, et al. Efficacy and safety of ^{177}Lu -EDTMP in bone metastatic pain palliation in breast cancer and hormone refractory prostate cancer : a phase II PubMed Commons. *Clin Nucl Med*. 2013;38(2):88-92. doi:10.1097/RLU.0b013e318279bf4d.Efficacy.
102. Chakraborty S, Das T, Dev H, Venkatesh M. Comparative studies of ^{177}Lu – EDTMP and ^{177}Lu – DOTMP as potential agents for palliative radiotherapy of bone metastasis. 2008;66:1196-1205. doi:10.1016/j.apradiso.2008.02.061.
103. Argyrou M, Valassi A, Andreou M, Lyra M. Rhenium-188 production in hospitals, by w-188/re-188 generator, for easy use in radionuclide therapy. *Int J Mol Imaging*. 2013. doi:10.1155/2013/290750.
104. Argyrou M, Valassi A, Andreou M, Lyra M. Dosimetry and Therapeutic Ratios for Rhenium-186 HEDP. *ISRN Mol Imaging*. 2013:1-6. doi:10.1155/2013/124603.
105. Paes FM, Serafini AN. Systemic metabolic radiopharmaceutical therapy in the treatment of metastatic bone pain. *Semin Nucl Med*. 2010;40(2):89-104. doi:10.1053/j.semnuclmed.2009.10.003.
106. Rijk PP Van, Van Dijk A, Schip AD, Zonnenberg BA. Pharmacokinetics of Rhenium- 186 After Administration of Rhenium- 186-HEDP to with Bone Metastases. *J Nucl Med*. 1992;33:646-651.
107. Liepe K. Systemic radionuclide therapy in pain palliation. *Am J Hosp Palliat Med*. 2005;22(6):457-464. doi:10.1177/104990910502200613.
108. Han SH, Klerk JMH De, Tan S, et al. The Placorhen Study : A Double-Blind , Placebo- Controlled , Randomized Radionuclide Study with ^{186}Re -Etidronate in Hormone-Resistant Prostate Cancer Patients with Painful Bone Metastases. *J Nucl Med*. 2002;43:1150-1156.
109. Sciuto R, Festa A, Pasqualoni R, et al. Metastatic bone pain palliation with ^{89}Sr and ^{186}Re -HEDP in breast cancer patients . PubMed Commons. *Breast Cancer Res Treat*. 2001;66(2):101-110.
110. Ogawa K, Mukai T, Asano D, Kawashima H, Kinuya S, Shiba K. Therapeutic Effects of a ^{186}Re -Complex – Conjugated Bisphosphonate for the Palliation of Metastatic Bone Pain in an Animal Model. 2007.
111. Biersack H, Palmedo H, Andris A, et al. Palliation and Survival After Repeated ^{188}Re -HEDP Therapy of Hormone-Refractory Bone Metastases of Prostate

- Cancer: A Retrospective Analysis. *J Nucl Med*. 2011;52:1721-1726.
doi:10.2967/jnumed.111.093674.
112. Liepe K, Hliscs R, Kropp J, Runge R, Franke W. Diphosphonate of ¹⁸⁸Re-Hydroxyethylidene in Human Prostate Cancer Skeletal Metastases. *J Nucl Med*. 2003;44:953-960.
 113. Torres Martin De Rosales R, Finucane C, Foster J, Sj M, Pj B. ¹⁸⁸Re (CO) 3-dipicolylamine-alendronate : a new bisphosphonate conjugate for the radiotherapy of bone metastases . PubMed Commons. *Bioconjug Chem*. 2010;21(5):811-816. doi:10.1021/bc100071k.¹⁸⁸Re(CO)₃-dipicolylamine-alendronate.
 114. Pandit-Taskar N, Larson SM, Carrasquillo J a. Bone-Seeking Radiopharmaceuticals for Treatment of Osseous Metastases, Part 1: α Therapy with ²²³Ra-Dichloride. *J Nucl Med*. 2014;55(2):268-74. doi:10.2967/jnumed.112.112482.
 115. Henriksen G, Fisher DR, Roeske JC, Bruland ØS, Larsen RH. Targeting of Osseous Sites with alpha-Emitting ²²³Ra: Comparison with the Beta-Emitter ⁸⁹Sr in Mice. *J Nucl Med*. 2003;44(2):252-259.
 116. Eriksen DØ, Ryningen B, Schoultz BW, Salberg G, Larsen RH. Liquid Scintillation Spectroscopy of ²²⁷Ac and Daughters. *J Anal Sci Methods Instrum*. 2012;2:33-36.
 117. Nilsson S, Franzén L, Parker C, et al. Two-year survival follow-up of the randomized, double-blind, placebo-controlled phase II study of radium-223 chloride in patients with castration-resistant prostate cancer and bone metastases. *Clin Genitourin Cancer*. 2013;11(1):20-6. doi:10.1016/j.clgc.2012.07.002.
 118. Nilsson S, Strang P, Aksnes a K, et al. A randomized, dose-response, multicenter phase II study of radium-223 chloride for the palliation of painful bone metastases in patients with castration-resistant prostate cancer. *Eur J Cancer*. 2012;48(5):678-86. doi:10.1016/j.ejca.2011.12.023.
 119. Nilsson S, Larsen RH, Fosså SD, et al. First clinical experience with alpha-emitting radium-223 in the treatment of skeletal metastases. *Clin Cancer Res*. 2005;11(12):4451-9. doi:10.1158/1078-0432.CCR-04-2244.
 120. Nilsson S, Franzén L, Parker C, et al. Bone-targeted radium-223 in symptomatic, hormone-refractory prostate cancer: a randomised, multicentre, placebo-controlled phase II study. *Lancet Oncol*. 2007;8(7):587-94. doi:10.1016/S1470-2045(07)70147-X.
 121. Nilsson S, Franzén L, Parker C, et al. Two-Year Survival Follow-Up of the Phase II Study of Radium-223 Chloride in Patients With Castration-Resistant Prostate

- Cancer and Bone Metastases. *CLGC*. 2013;11(1):20-26.
doi:10.1016/j.clgc.2012.07.002.
122. Knapp FFR. Future Prospects for Medical Radionuclide Production in The High Flux Isotope Reactor (HFIR) at The Oak Ridge National Laboratory (ORNL). *Ann Nucl Med Sci*. 2001;14(2):109-118.
 123. Link A. *Economic Evaluation of Radiopharmaceutical Research at NIST*.; 1997:20.
 124. El Naqa I, Pater P, Seuntjens J. Monte Carlo role in radiobiological modelling of radiotherapy outcomes. *Phys Med Biol*. 2012;57(11):R75-97.
doi:10.1088/0031-9155/57/11/R75.
 125. Semenenko V a, Stewart RD. A fast Monte Carlo algorithm to simulate the spectrum of DNA damages formed by ionizing radiation. *Radiat Res*. 2004;161(4):451-7. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15038766>.
 126. Semenenko V a, Stewart RD. Fast Monte Carlo simulation of DNA damage formed by electrons and light ions. *Phys Med Biol*. 2006;51(7):1693-706.
doi:10.1088/0031-9155/51/7/004.
 127. Semenenko VA, Stewart RD. Monte Carlo Simulation of base and nucleotide excision repair of clustered DNA damage sites. II. Comparisons of model predictions to measured data. *Radiat Res*. 2005;164(2):194-201.
 128. Semenenko VA, Stewart RD, J AE. Monte Carlo simulation of base and nucleotide excision repair of clustered DNA damage sites. I. Model properties and predicted trends. *Radiat Res*. 2005;164(2):180-193.
 129. Carlson DJ, Stewart RD, Semenenko V a, Sandison G a. Combined use of Monte Carlo DNA damage simulations and deterministic repair models to examine putative mechanisms of cell killing. *Radiat Res*. 2008;169(4):447-59.
doi:10.1667/RR1046.1.
 130. Robert H, Hong S, Watchman C, et al. A bone marrow toxicity model for ²²³Ra alpha-emitter radiopharmaceutical therapy. 2013;57(10):3207-3222.
doi:10.1088/0031-9155/57/10/3207.A.
 131. Tavares AAS, Tavares JMRS. Evaluating [sup 99m]Tc Auger electrons for targeted tumor radiotherapy by computational methods. *Med Phys*. 2010;37(7):3551. doi:10.1118/1.3451117.
 132. Tavares AAS, Tavares JMRS. (99m)Tc Auger electrons for targeted tumour therapy: a review. *Int J Radiat Biol*. 2010;86(4):261-70.
doi:10.3109/09553000903564083.

133. Nemoto R. New bone formation and cancer implants; relationship to tumour proliferative activity. *Br J Cancer*. 1991;63(3):348-50. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1971865&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
134. Stewart RD, Yu VK, Georgakilas AG, Koumenis C, Park H. Effects of Radiation Quality and Oxygen on Clustered DNA Lesions and Cell Death. *Radiat Res*. 2011;602:587-602. doi:10.1667/RR2663.1.
135. Bodei L, Lam M, Chiesa C, et al. EANM procedure guideline for treatment of refractory metastatic bone pain. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008;35(10):1934-40. doi:10.1007/s00259-008-0841-y.
136. Schajowicz F, Sissons HA, Sobin LH. The World Health Organization 's Histologic Classification of Bone Tumors A Commentary on the Second Edition. *World Heal Organ*. 1993:1208-1214.
137. Silberstein EB, Buscombe JR, McEwan A, Taylor AT, Definitions A, Background B. Society of Nuclear Medicine Procedure Guideline for Palliative Treatment of Painful Bone Metastases. *Soc Nucl Med Proced Guidel Man March 2003*. 2003:147-154.
138. Tavares AAS, Tavares JMRS. COMPUTATIONAL MODELING OF CELLULAR EFFECTS POST-IRRADIATION WITH LOW- AND HIGH-LET PARTICLES AND DIFFERENT ABSORBED DOSES. *Int Dose-Response Soc*. 2013;11:191-206. doi:10.2203/dose-response.11-049.Tavares.
139. Stewart RD. Two-lesion kinetic model of double-strand break rejoining and cell killing. *Radiat Res*. 2001;156(4):365-78. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11554848>.
140. Bé M, Chisté V, Duliéu C. *Table of Radionuclides*. Bureau Int.; 2004.
141. Effects R, Auger OF. MOLECULAR AND CELLULAR RADIOBIOLOGICAL EFFECTS. *Radiat Prot Dosimetry*. 2011;143(2):241-247.
142. Morrissey C, Vessella RL. The role of tumor microenvironment in prostate cancer bone metastasis. *J Cell Biochem*. 2007;101(4):873-86. doi:10.1002/jcb.21214.

Anexos

A.1: Resultados MCDS

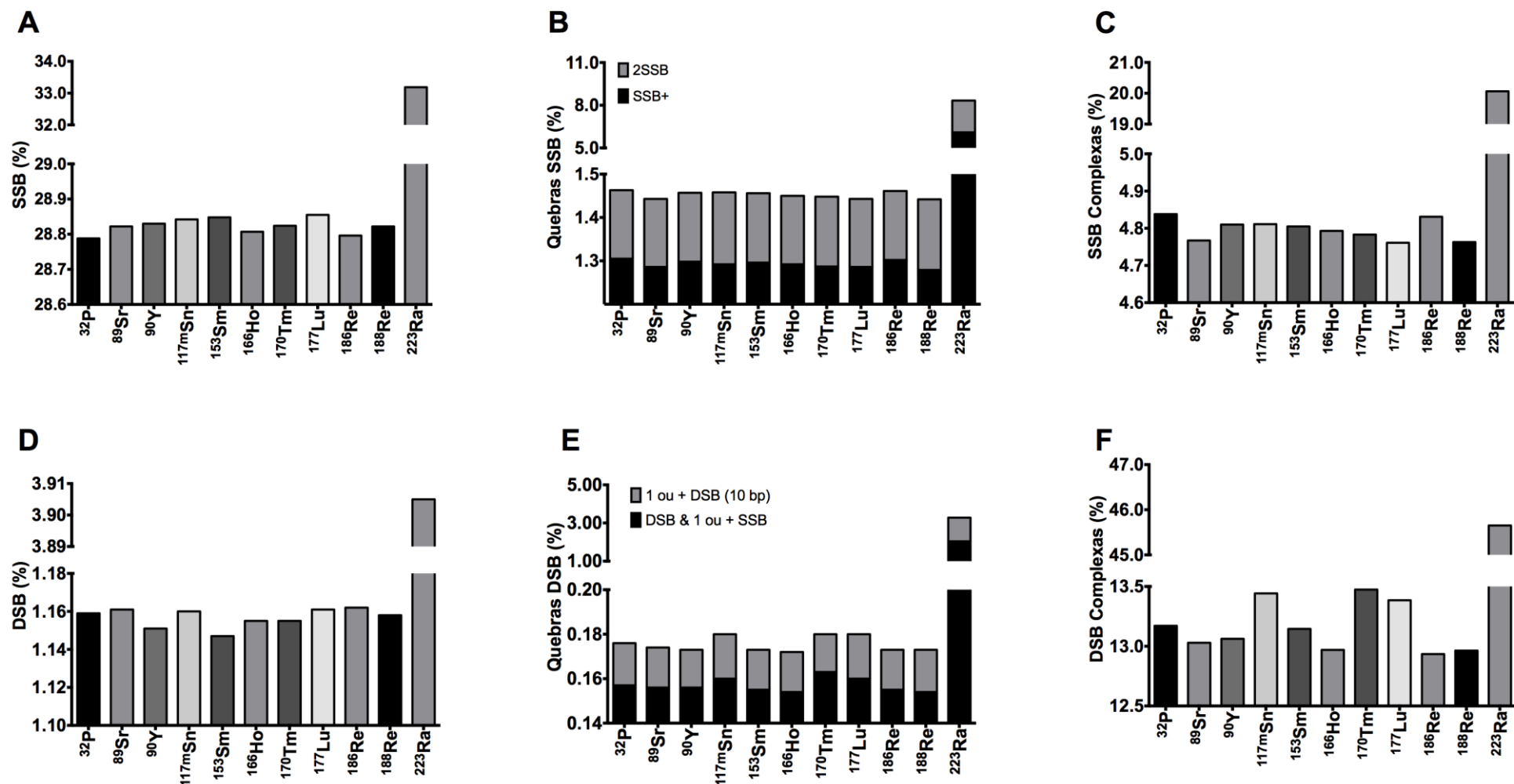


Figura A.1: Resumo das lesões provocadas no ADN determinadas pelo uso do simulador MCDS. (A) Percentagem total das SSB radioinduzidas após irradiação com os diferentes isótopos; (B) Percentagem de duas ou mais SSB na mesma sequência de ADN (2SSB), duas ou mais SSB em segmentos opostos separados por 10 ou mais Pb (2 ou +SSB); (C) Fração de SSB complexas após irradiação com os diferentes isótopos; (D) Percentagem total das DSB radioinduzidas após irradiação com os diferentes isótopos; (E) percentagem de uma DSB e uma ou mais SSB separadas por no máximo 10 Pb (1 ou +DSB); (F) Fração de DSB complexas após irradiação com os diferentes isótopos.

A.2: Resultados MCER

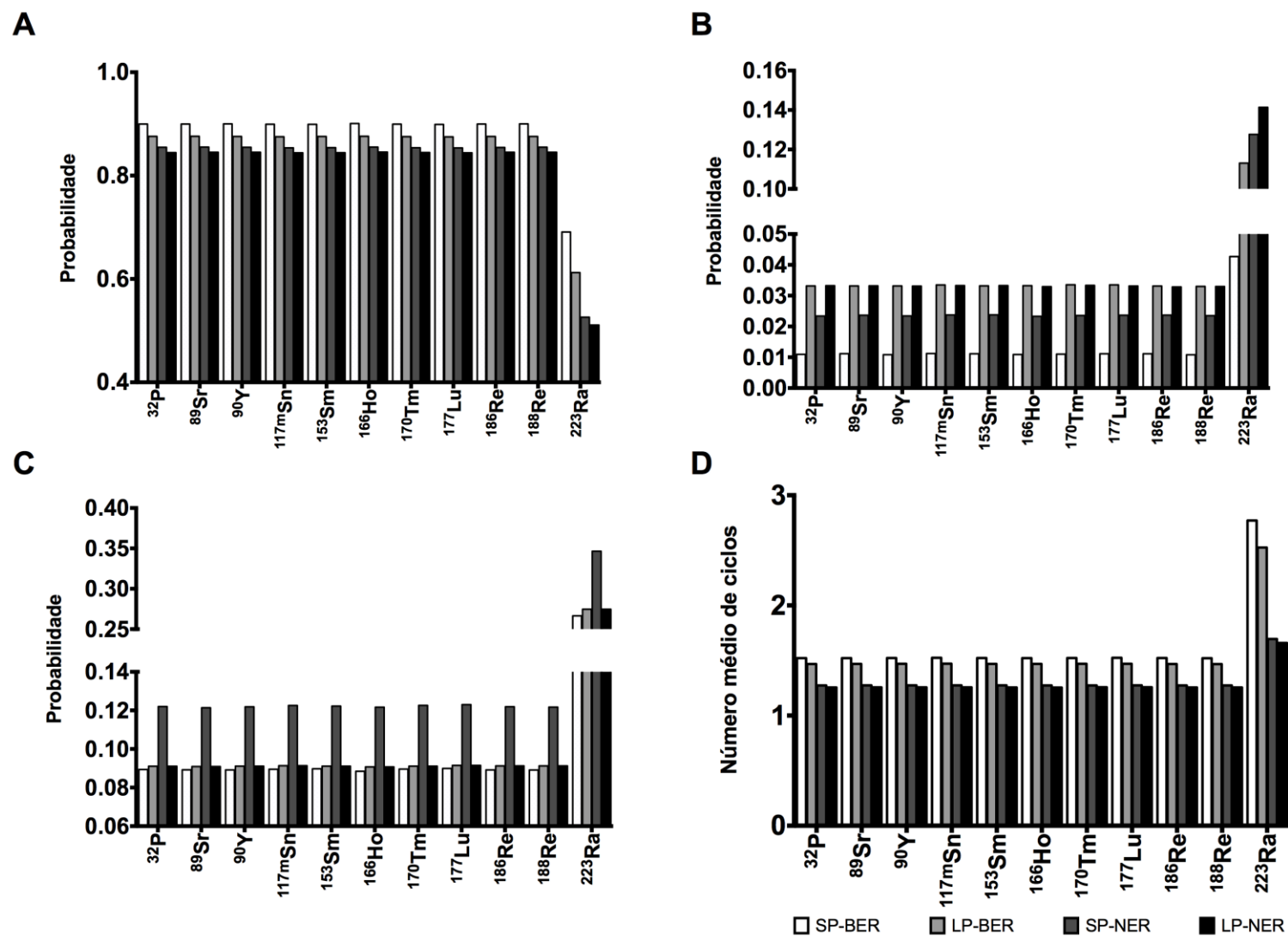


Figura A.2: Resultados dos mecanismos de reparação do ADN obtidos pelo uso do simulador MCER. Probabilidade de (A) uma reparação correta (p COR), (B) reparação com mutações (p MUT), (C) evolução para DSB (p DSB), (D) número médio de ciclos de reparação para SP-BER, LP-BER, SP-NER e LP-NER.

A.3: Número de Mutações Letais por Célula

Cenários de irradiação	³² P	⁸⁹ Sr	⁹⁰ Y	^{117m} Sn	¹⁵³ Sm	¹⁶⁶ Ho	¹⁷⁰ Tm	¹⁷⁷ Lu	¹⁸⁶ Re	¹⁸⁸ Re	²²³ Ra
0.1Gy/2h	0.00767	0.00755	0.00754	0.00770	0.00753	0.00752	0.00773	0.00773	0.00749	0.00752	0.04456
0.5Gy/2h	0.03045	0.03015	0.03010	0.03072	0.03005	0.02994	0.03096	0.03101	0.02971	0.02997	0.50674
1Gy/2h	0.07358	0.07270	0.07256	0.07435	0.07240	0.07208	0.07507	0.07521	0.07141	0.07216	1.68200
2Gy/2h	0.20812	0.20529	0.20484	0.21055	0.20430	0.20329	0.21290	0.21337	0.20113	0.20355	5.64730
5Gy/2h	0.98047	0.96608	0.96367	0.99259	0.96071	0.95582	1.00470	1.00740	0.94465	0.95717	26.26700
8Gy/2h	2.26560	2.23220	2.22640	2.29310	2.21910	2.20820	2.32160	2.32810	2.18210	2.21140	54.96400
0.1Gy/24h	0.00771	0.00767	0.00767	0.00774	0.00766	0.00765	0.00777	0.00777	0.00762	0.00765	0.03868
0.5Gy/24h	0.02640	0.02616	0.02613	0.02664	0.02610	0.02599	0.02685	0.02685	0.02581	0.02601	0.36051
1Gy/24h	0.05671	0.05606	0.05599	0.05735	0.05594	0.05561	0.05797	0.05790	0.05515	0.05566	1.13980
2Gy/24h	0.14059	0.13865	0.13841	0.14254	0.13832	0.13734	0.14444	0.14413	0.13591	0.13747	3.76190
5Gy/24h	0.57080	0.56152	0.56092	0.58042	0.56075	0.55525	0.59053	0.58783	0.54897	0.55584	17.76000
8Gy/24h	1.25100	1.22970	1.22840	1.27320	1.22820	1.21530	1.29690	1.29010	1.20100	1.21660	37.80800
0.1Gy/48h	0.00789	0.00786	0.00785	0.00793	0.00785	0.00784	0.00795	0.00796	0.00781	0.00784	0.03584
0.5Gy/48h	0.02542	0.02520	0.02511	0.02562	0.02510	0.02505	0.02584	0.02582	0.02481	0.02507	0.28741
1Gy/48h	0.05170	0.05115	0.05116	0.05223	0.05118	0.05078	0.05318	0.05270	0.05042	0.05082	0.86639
2Gy/48h	0.12003	0.11849	0.11866	0.12157	0.11884	0.11746	0.12482	0.12286	0.11654	0.11758	2.79960
5Gy/48h	0.44639	0.43939	0.44082	0.45356	0.44228	0.43475	0.47200	0.45927	0.43100	0.43528	13.38300
8Gy/48h	0.94550	0.92961	0.93330	0.96189	0.93708	0.91915	1.00610	0.97472	0.91088	0.92033	29.07200
0.1Gy/120h	0.00887	0.00883	0.00875	0.00890	0.00866	0.00881	0.00861	0.00893	0.00870	0.00881	0.03355
0.5Gy/120h	0.02500	0.02481	0.02480	0.02517	0.02478	0.02468	0.02555	0.02536	0.02450	0.02469	0.20818
1Gy/120h	0.04725	0.04680	0.04709	0.04766	0.04731	0.04651	0.04994	0.04809	0.04631	0.04655	0.56215
2Gy/120h	0.09930	0.09817	0.09960	0.10036	0.10091	0.09744	0.10999	0.10142	0.09742	0.09755	1.69220
5Gy/120h	0.31565	0.31101	0.32114	0.32002	0.32941	0.30821	0.37857	0.32487	0.31036	0.30869	7.98050
8Gy/120h	0.61999	0.60983	0.63544	0.62963	0.65636	0.60384	0.77449	0.64044	0.61040	0.60490	17.78600
0.1Gy/240h	0.01066	0.01062	0.01038	0.01069	0.01022	0.01060	0.00927	0.01064	0.01042	0.01060	0.03383
0.5Gy/240h	0.02622	0.02603	0.02601	0.02638	0.02600	0.02591	0.02610	0.02649	0.02574	0.02593	0.17412
1Gy/240h	0.04668	0.04626	0.04699	0.04704	0.04749	0.04600	0.05013	0.04744	0.04608	0.04605	0.42482
2Gy/240h	0.09159	0.09056	0.09427	0.09245	0.09698	0.08999	0.10868	0.09373	0.09130	0.09013	1.16790
5Gy/240h	0.25896	0.25494	0.28001	0.26209	0.29736	0.25308	0.36768	0.26823	0.26387	0.25374	5.16320
8Gy/240h	0.47483	0.46618	0.52982	0.48140	0.57375	0.46252	0.74632	0.49563	0.49105	0.46406	11.48100

A.4: Probabilidade de Transformação neoplásica nas células irradiadas

Cenários de irradiação	³² P	⁸⁹ Sr	⁹⁰ Y	^{117m} Sn	¹⁵³ Sm	¹⁶⁶ Ho	¹⁷⁰ Tm	¹⁷⁷ Lu	¹⁸⁶ Re	¹⁸⁸ Re	²²³ Ra
0.1Gy/2h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
0.5Gy/2h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00004
1Gy/2h	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00001
2Gy/2h	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00000
5Gy/2h	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00000
8Gy/2h	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001	0.00001	0.00000
0.1Gy/24h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
0.5Gy/24h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00005
1Gy/24h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00002
2Gy/24h	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00000
5Gy/24h	0.00004	0.00004	0.00004	0.00004	0.00004	0.00004	0.00004	0.00004	0.00004	0.00004	0.00000
8Gy/24h	0.00002	0.00002	0.00002	0.00002	0.00002	0.00002	0.00002	0.00002	0.00002	0.00002	0.00000
0.1Gy/48h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
0.5Gy/48h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00005
1Gy/48h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00003
2Gy/48h	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00000
5Gy/48h	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00004	0.00004	0.00005	0.00005	0.00000
8Gy/48h	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00003	0.00000
0.1Gy/120h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
0.5Gy/120h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00006
1Gy/120h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00004
2Gy/120h	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00001
5Gy/120h	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00000
8Gy/120h	0.00004	0.00004	0.00004	0.00004	0.00004	0.00004	0.00003	0.00004	0.00004	0.00004	0.00000
0.1Gy/240h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
0.5Gy/240h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00006
1Gy/240h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00005
2Gy/240h	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00006	0.00002
5Gy/240h	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00000
8Gy/240h	0.00004	0.00005	0.00004	0.00004	0.00004	0.00005	0.00003	0.00004	0.00004	0.00005	0.00000

A.5: Probabilidade de Transformação neoplásica nas células sobreviventes

Cenários de irradiação	³² P	⁸⁹ Sr	⁹⁰ Y	^{117m} Sn	¹⁵³ Sm	¹⁶⁶ Ho	¹⁷⁰ Tm	¹⁷⁷ Lu	¹⁸⁶ Re	¹⁸⁸ Re	²²³ Ra
0.1Gy/2h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
0.5Gy/2h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
1Gy/2h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
2Gy/2h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
5Gy/2h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00008
8Gy/2h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00009
0.1Gy/24h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
0.5Gy/24h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
1Gy/24h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
2Gy/24h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
5Gy/24h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00008
8Gy/24h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00009
0.1Gy/48h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
0.5Gy/48h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
1Gy/48h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
2Gy/48h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
5Gy/48h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00008
8Gy/48h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00009
0.1Gy/120h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
0.5Gy/120h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
1Gy/120h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
2Gy/120h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
5Gy/120h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00008
8Gy/120h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00009
0.1Gy/240h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
0.5Gy/240h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
1Gy/240h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
2Gy/240h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007
5Gy/240h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00008
8Gy/240h	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00007	0.00009

A.6: Número de células normais sobreviventes numa população quiescente ($G_0=0$)

Cenários de irradiação	³² P	⁸⁹ Sr	⁹⁰ Y	^{117m} Sn	¹⁵³ Sm	¹⁶⁶ Ho	¹⁷⁰ Tm	¹⁷⁷ Lu	¹⁸⁶ Re	¹⁸⁸ Re	²²³ Ra
0.1Gy/2h	992.40	992.52	992.52	992.37	992.53	992.55	992.34	992.33	992.57	992.54	956.45
0.5Gy/2h	970.04	970.33	970.38	969.79	970.43	970.54	969.55	969.50	970.76	970.51	602.48
1Gy/2h	929.10	929.91	930.04	928.38	930.19	930.49	927.71	927.58	931.11	930.41	186.01
2Gy/2h	812.14	814.44	814.81	810.17	815.25	816.07	808.27	807.89	817.84	815.86	3.53
5Gy/2h	375.15	380.58	381.50	370.63	382.64	384.51	366.16	365.20	388.83	383.99	0.00
8Gy/2h	103.77	107.30	107.92	100.95	108.71	109.90	98.12	97.48	112.81	109.55	0.00
0.1Gy/24h	992.36	992.39	992.40	992.32	992.40	992.42	992.30	992.29	992.44	992.41	962.10
0.5Gy/24h	973.98	974.21	974.24	973.75	974.27	974.38	973.54	973.54	974.55	974.36	697.35
1Gy/24h	944.91	945.52	945.59	944.30	945.63	945.94	943.72	943.78	946.38	945.90	319.90
2Gy/24h	868.88	870.56	870.77	867.18	870.85	871.71	865.54	865.80	872.95	871.59	23.24
5Gy/24h	565.09	570.36	570.70	559.69	570.80	573.95	554.05	555.55	577.57	573.61	0.00
8Gy/24h	286.23	292.40	292.77	279.96	292.84	296.63	273.40	275.26	300.91	296.23	0.00
0.1Gy/48h	992.17	992.21	992.21	992.14	992.22	992.23	992.11	992.11	992.26	992.23	964.83
0.5Gy/48h	974.94	975.15	975.24	974.74	975.25	975.30	974.53	974.55	975.53	975.28	750.23
1Gy/48h	949.65	950.17	950.16	949.15	950.14	950.53	948.24	948.70	950.87	950.48	420.48
2Gy/48h	886.92	888.29	888.14	885.56	887.98	889.21	882.68	884.42	890.03	889.10	60.84
5Gy/48h	639.96	644.45	643.53	635.39	642.59	647.45	623.77	631.77	649.88	647.11	0.00
8Gy/48h	388.50	394.72	393.27	382.18	391.78	398.87	365.64	377.31	402.19	398.40	0.00
0.1Gy/120h	991.21	991.24	991.33	991.18	991.41	991.26	991.46	991.15	991.37	991.26	967.04
0.5Gy/120h	975.35	975.53	975.54	975.18	975.56	975.66	974.81	975.00	975.83	975.64	812.09
1Gy/120h	953.88	954.31	954.04	953.49	953.83	954.59	951.32	953.08	954.78	954.55	570.00
2Gy/120h	905.50	906.53	905.23	904.55	904.05	907.19	895.87	903.58	907.21	907.09	184.12
5Gy/120h	729.34	732.73	725.35	726.16	719.37	734.78	684.87	722.64	733.21	734.44	0.34
8Gy/120h	537.97	543.46	529.72	532.81	518.75	546.73	460.95	527.08	543.15	546.15	0.00
0.1Gy/240h	989.43	989.47	989.71	989.41	989.87	989.49	990.81	989.46	989.67	989.49	966.77
0.5Gy/240h	974.16	974.34	974.36	974.00	974.37	974.46	974.28	973.89	974.62	974.44	840.22
1Gy/240h	954.43	954.83	954.13	954.09	953.65	955.07	951.14	953.70	955.00	955.03	653.91
2Gy/240h	912.51	913.45	910.07	911.73	907.61	913.97	897.05	910.56	912.78	913.85	311.03
5Gy/240h	771.88	774.99	755.80	769.47	742.80	776.43	692.37	764.76	768.10	775.92	5.72
8Gy/240h	622.01	627.42	588.73	617.94	563.43	629.72	474.13	609.21	612.00	628.75	0.01

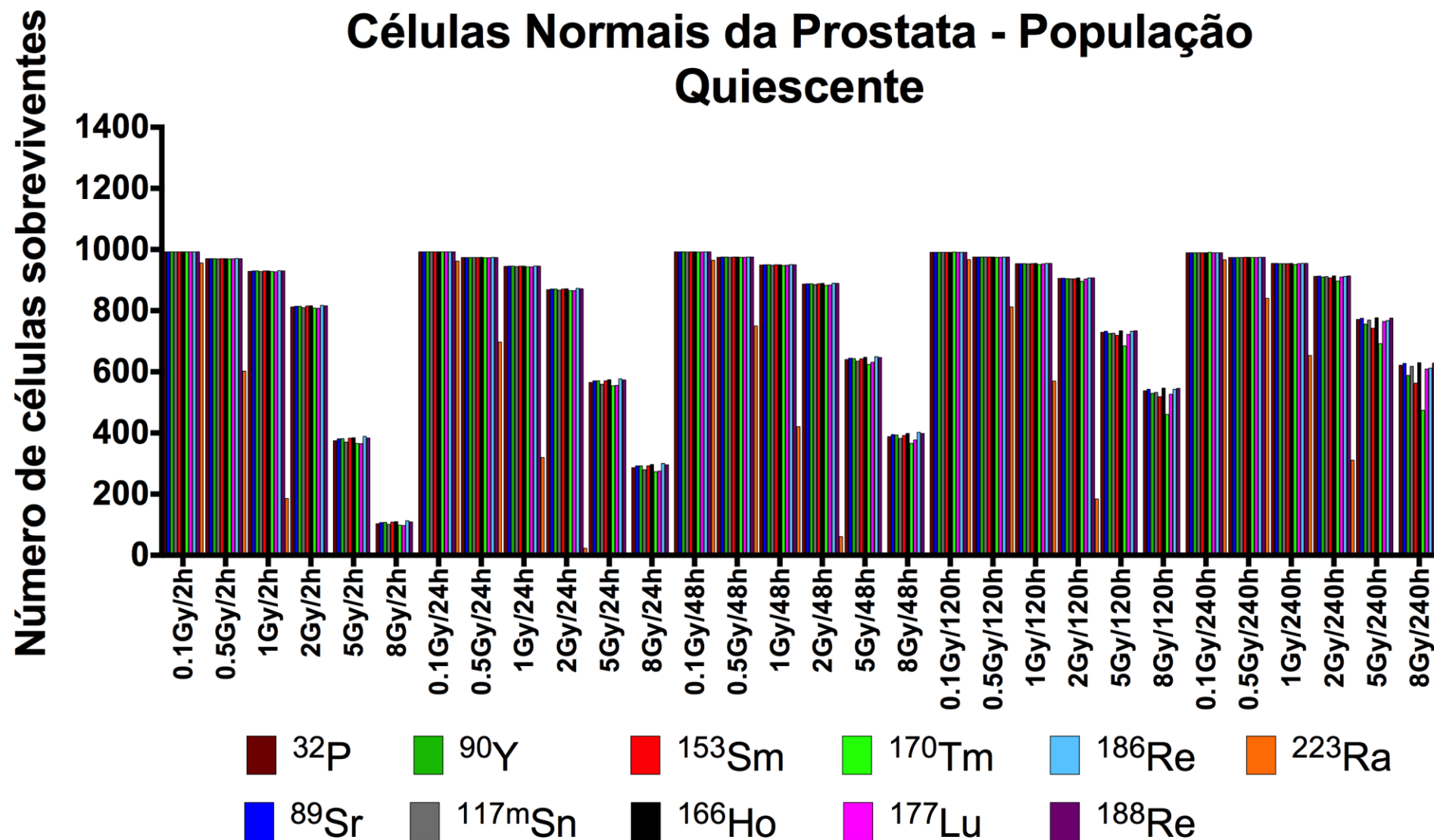


Figura A.6: Resultados número de células normais da próstata sobreviventes numa população quiescente após irradiação com os diferentes radioisótopos.

A.7: Número de células normais sobreviventes numa população heterogénea ($G_0=0.5$)

Cenários de irradiação	³² P	⁸⁹ Sr	⁹⁰ Y	^{117m} Sn	¹⁵³ Sm	¹⁶⁶ Ho	¹⁷⁰ Tm	¹⁷⁷ Lu	¹⁸⁶ Re	¹⁸⁸ Re	²²³ Ra
0.1Gy/2h	999.22	999.19	999.20	999.18	999.20	999.22	999.15	999.15	999.25	999.21	963.71
0.5Gy/2h	977.27	977.56	977.61	977.01	977.66	977.77	976.77	976.73	978.00	977.74	607.30
1Gy/2h	936.29	937.11	937.24	935.57	937.39	937.69	934.90	934.76	938.32	937.62	187.48
2Gy/2h	818.55	820.86	821.23	816.56	821.68	822.50	814.64	814.26	824.29	822.29	3.55
5Gy/2h	378.27	383.75	384.68	373.71	385.82	387.71	369.20	368.24	392.06	387.19	0.00
8Gy/2h	104.65	108.20	108.83	101.81	109.63	110.83	98.95	98.31	113.77	110.47	0.00
0.1Gy/24h	999.52	999.55	999.56	999.49	999.56	999.58	999.46	999.45	999.61	999.58	969.87
0.5Gy/24h	981.57	981.81	981.84	981.34	981.87	981.98	981.13	981.14	982.15	981.96	703.31
1Gy/24h	952.55	953.17	953.24	951.94	953.28	953.60	951.35	951.42	954.04	953.55	322.59
2Gy/24h	876.16	877.86	877.95	874.45	878.02	879.01	872.67	873.06	880.14	878.90	23.42
5Gy/24h	569.99	575.31	575.65	564.54	575.75	578.93	558.86	560.37	582.57	578.58	0.00
8Gy/24h	288.76	294.98	295.35	282.43	295.42	299.25	275.81	277.69	303.57	298.85	0.00
0.1Gy/48h	999.74	999.77	999.78	999.71	999.78	999.80	999.68	999.67	999.82	999.79	973.02
0.5Gy/48h	983.08	983.29	983.25	982.88	983.26	983.44	982.53	982.69	983.53	983.43	756.97
1Gy/48h	957.72	958.25	958.23	982.88	958.22	958.60	956.30	956.76	958.95	958.56	424.30
2Gy/48h	894.72	896.10	895.95	893.35	895.78	897.02	890.31	892.19	897.85	896.92	61.36
5Gy/48h	645.77	650.31	649.37	641.16	648.43	653.33	629.44	637.50	655.78	652.98	0.00
8Gy/48h	392.14	398.42	396.90	385.77	395.40	402.61	369.01	380.85	405.90	402.14	0.00
0.1Gy/120h	1000.60	1000.60	1000.50	1000.50	1000.50	1000.60	1000.20	1000.50	1000.60	1000.60	977.00
0.5Gy/120h	985.11	985.30	985.17	984.94	985.05	985.43	984.00	984.76	985.46	985.41	820.89
1Gy/120h	963.71	964.14	963.73	963.32	963.38	964.43	960.57	962.90	964.48	964.39	576.19
2Gy/120h	915.10	916.14	914.56	914.13	913.37	916.80	904.84	913.03	916.69	916.70	186.10
5Gy/120h	737.29	740.71	733.14	734.07	726.99	742.79	691.93	730.51	741.09	742.43	0.35
8Gy/120h	543.90	549.46	535.49	538.69	524.33	552.76	465.84	532.90	549.07	552.17	0.00
0.1Gy/240h	1001.90	1002.00	1001.80	1001.90	1001.70	1002.00	1000.70	1001.80	1001.90	1002.00	979.69
0.5Gy/240h	987.04	987.23	986.82	986.88	986.55	987.35	984.61	986.63	987.23	987.33	851.92
1Gy/240h	967.33	967.74	966.61	966.99	965.85	967.99	961.51	966.45	967.64	967.94	663.15
2Gy/240h	925.11	926.07	922.11	924.33	919.48	926.60	906.96	923.01	925.12	926.47	315.44
5Gy/240h	782.77	785.92	766.13	780.33	752.74	787.38	700.32	775.43	778.71	786.87	5.80
8Gy/240h	630.88	636.36	596.86	626.75	571.05	638.69	479.64	617.80	620.55	637.71	0.01

Número de células sobreviventes

Células Normais da Prostata - População Heterogénea

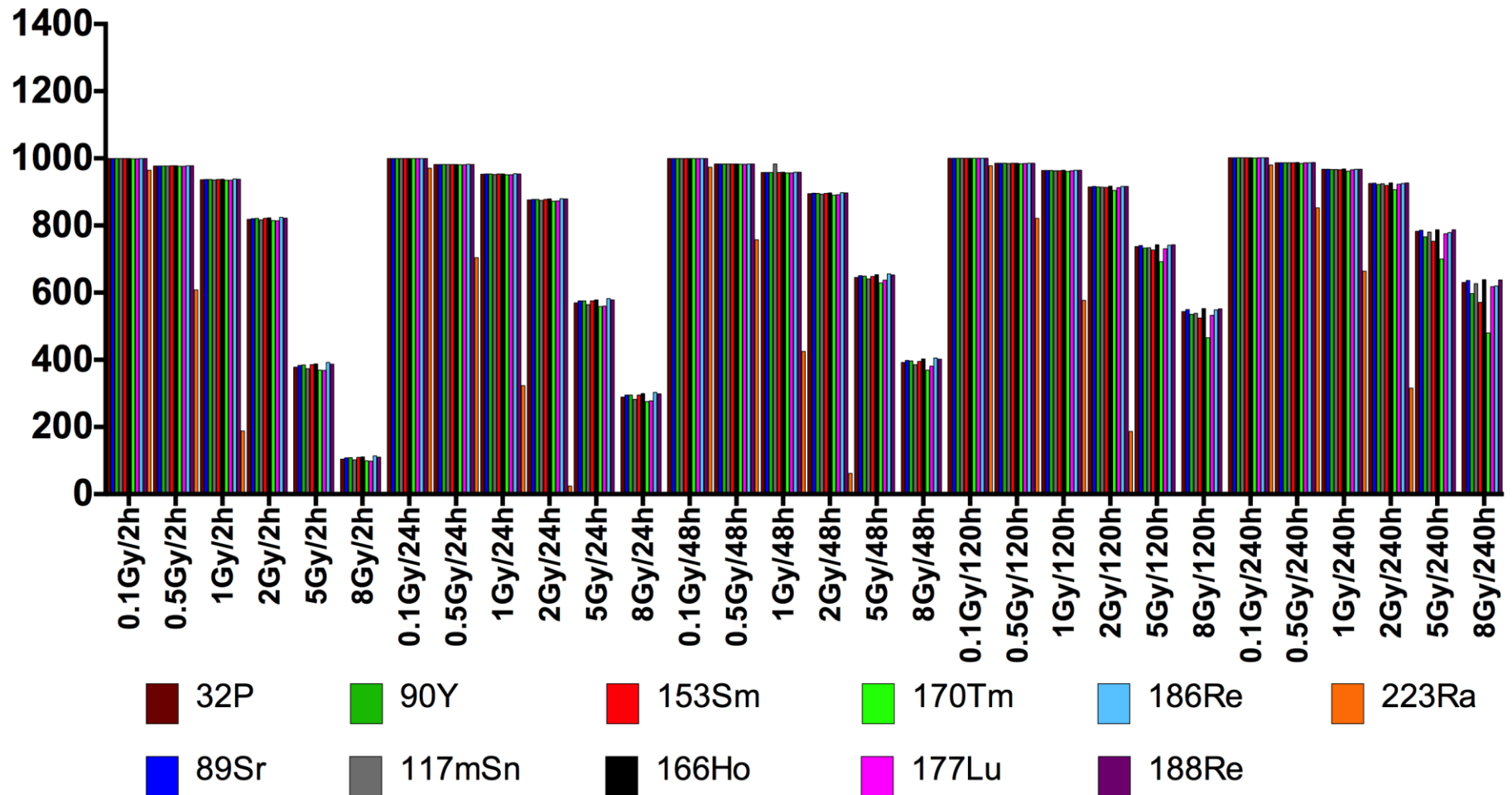


Figura A.7: Resultados número de células normais da próstata sobreviventes numa população heterogénea após irradiação com os diferentes radioisótopos.

A.8: Número de células normais sobreviventes numa população em divisão ($G_0=1$)

Cenários de irradiação	³² P	⁸⁹ Sr	⁹⁰ Y	^{117m} Sn	¹⁵³ Sm	¹⁶⁶ Ho	¹⁷⁰ Tm	¹⁷⁷ Lu	¹⁸⁶ Re	¹⁸⁸ Re	²²³ Ra
0.1Gy/2h	1006.10	1005.90	1005.90	1006.00	1005.90	1005.90	1006.00	1006.00	1006.00	1005.90	971.03
0.5Gy/2h	984.55	984.85	984.89	984.29	984.94	985.06	984.05	984.00	985.28	985.03	612.27
1Gy/2h	943.54	944.36	944.50	942.81	944.65	944.95	942.13	942.00	945.58	944.88	189.07
2Gy/2h	825.00	827.33	827.71	823.00	828.16	828.99	821.07	820.68	830.79	828.77	3.58
5Gy/2h	381.42	386.95	387.88	376.82	389.03	390.94	372.28	371.30	395.33	390.41	0.00
8Gy/2h	105.54	109.12	109.75	102.67	110.56	111.77	99.79	99.14	114.73	111.41	0.00
0.1Gy/24h	1006.70	1006.80	1006.80	1006.70	1006.80	1006.80	1006.70	1006.70	1006.80	1006.80	977.72
0.5Gy/24h	989.23	989.47	989.50	989.00	989.52	989.64	988.79	988.79	989.81	989.62	709.41
1Gy/24h	960.26	960.88	960.95	959.64	960.99	961.31	959.05	959.12	961.76	961.26	325.44
2Gy/24h	883.51	885.22	885.18	881.78	885.25	886.38	879.86	880.38	887.39	886.26	23.63
5Gy/24h	574.94	580.30	580.64	569.44	580.75	583.95	563.71	565.23	587.63	583.60	0.00
8Gy/24h	291.30	297.58	297.95	284.92	298.03	301.89	278.24	280.14	306.25	301.48	0.00
0.1Gy/48h	1007.40	1007.40	1007.40	1007.80	1007.40	1007.40	1007.30	1007.30	1007.40	1007.40	981.29
0.5Gy/48h	991.29	991.51	991.32	991.63	991.32	991.66	990.59	990.90	991.60	991.64	763.85
1Gy/48h	965.86	966.39	966.38	967.06	966.36	966.75	964.42	964.89	967.10	966.71	428.28
2Gy/48h	902.58	903.97	903.82	906.46	903.66	904.91	898.01	900.03	905.74	904.80	61.94
5Gy/48h	651.63	656.21	655.27	668.64	654.32	659.26	635.15	643.29	661.74	658.91	0.00
8Gy/48h	395.82	402.15	400.56	421.92	399.05	406.38	372.42	384.42	409.64	405.91	0.00
0.1Gy/120h	1010.00	1010.00	1009.80	1010.00	1009.60	1010.00	1009.10	1009.90	1009.90	1010.00	987.07
0.5Gy/120h	994.98	995.17	994.89	994.80	994.62	995.30	993.28	994.62	995.19	995.28	829.83
1Gy/120h	973.65	974.08	973.52	973.25	973.03	974.37	969.91	972.82	974.28	974.33	582.55
2Gy/120h	924.80	925.85	923.99	923.82	922.78	926.52	913.90	922.57	926.27	926.42	188.21
5Gy/120h	745.31	748.78	741.02	742.06	734.70	750.87	699.06	738.47	749.05	750.52	0.35
8Gy/120h	549.91	555.52	541.32	544.63	529.96	558.86	470.78	538.78	555.05	558.27	0.00
0.1Gy/240h	1014.60	1014.60	1014.00	1014.60	1013.60	1014.70	1010.80	1014.30	1014.30	1014.70	992.80
0.5Gy/240h	1000.10	1000.30	999.44	999.94	998.88	1000.40	995.06	999.53	1000.00	1000.40	863.81
1Gy/240h	980.41	980.82	979.26	980.06	978.20	981.08	971.99	979.38	980.44	981.03	672.60
2Gy/240h	937.89	938.86	934.30	937.09	931.51	939.40	916.98	935.62	937.63	939.27	320.03
5Gy/240h	793.81	797.01	776.60	791.33	762.80	798.49	708.36	786.26	789.47	797.97	5.88
8Gy/240h	639.87	645.43	605.11	635.68	578.77	647.79	485.22	626.51	629.21	646.80	0.01

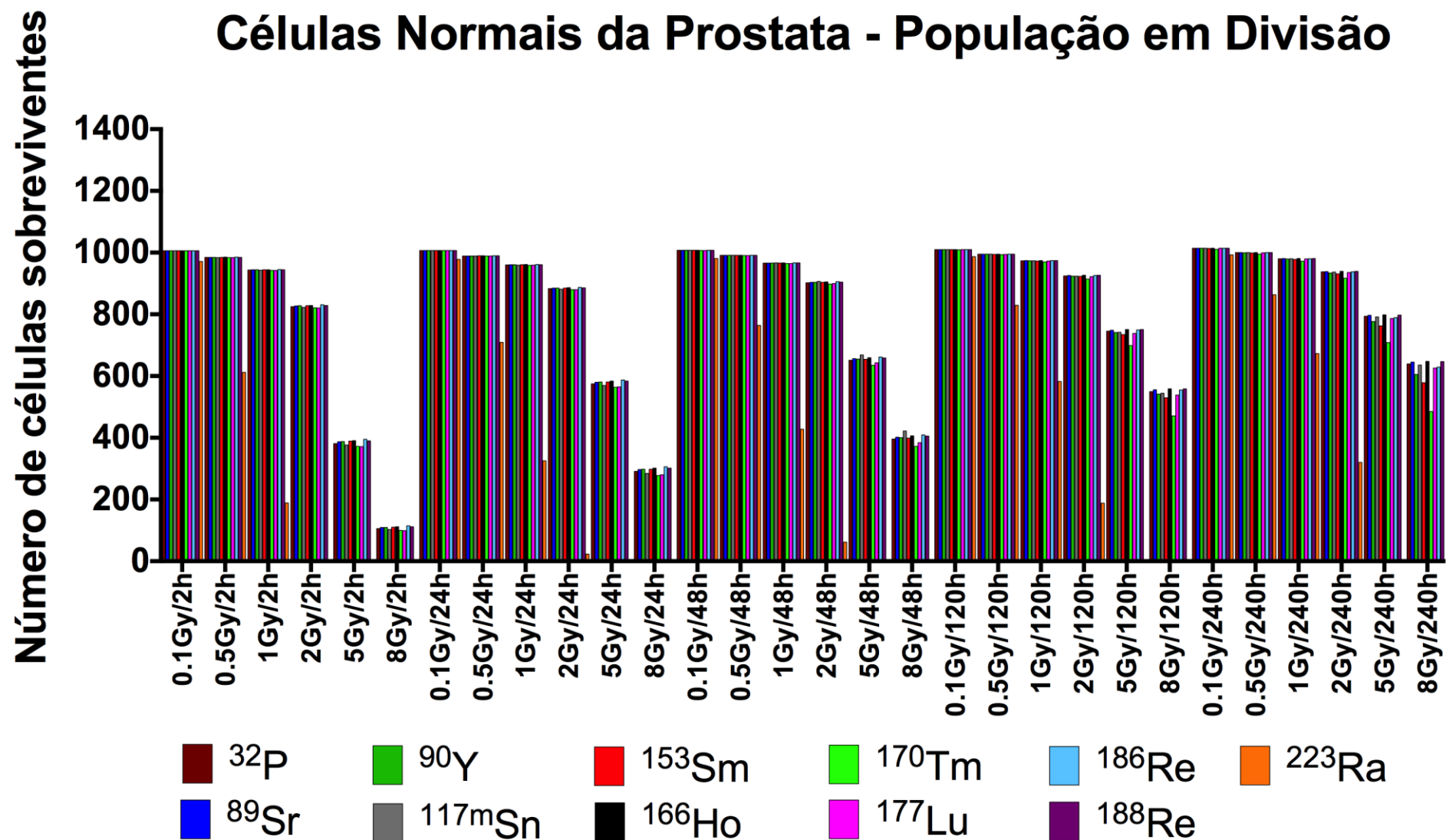


Figura A.8: Resultados número de células normais da próstata sobreviventes numa população em divisão após irradiação com os diferentes radioisótopos.

A.9: Número de células neoplásicas sobreviventes numa população quiescente ($G_0=0$)

Cenários de irradiação	³² P	⁸⁹ Sr	⁹⁰ Y	^{117m} Sn	¹⁵³ Sm	¹⁶⁶ Ho	¹⁷⁰ Tm	¹⁷⁷ Lu	¹⁸⁶ Re	¹⁸⁸ Re	²²³ Ra
0.1Gy/2h	992.40	992.52	992.52	992.37	992.53	992.55	992.34	992.33	992.57	992.54	956.45
0.5Gy/2h	970.04	970.33	970.38	969.79	970.43	970.54	969.55	969.50	970.76	970.51	602.48
1Gy/2h	929.10	929.91	930.04	928.38	930.19	930.49	927.71	927.58	931.11	930.41	186.01
2Gy/2h	812.14	814.44	814.81	810.17	815.25	816.07	808.27	807.89	817.84	815.86	3.53
5Gy/2h	375.15	380.58	381.50	370.63	382.64	384.51	366.16	365.20	388.83	383.99	0.00
8Gy/2h	103.77	107.30	107.92	100.95	108.71	109.90	98.12	97.48	112.81	109.55	0.00
0.1Gy/24h	992.36	992.39	992.40	992.32	992.40	992.42	992.30	992.29	992.44	992.41	962.10
0.5Gy/24h	973.98	974.21	974.24	973.75	974.27	974.38	973.54	973.54	974.55	974.36	697.35
1Gy/24h	944.91	945.52	945.59	944.30	945.63	945.94	943.72	943.78	946.38	945.90	319.90
2Gy/24h	868.88	870.56	870.77	867.18	870.85	871.71	865.54	865.80	872.95	871.59	23.24
5Gy/24h	565.09	570.36	570.70	559.69	570.80	573.95	554.05	555.55	577.57	573.61	0.00
8Gy/24h	286.23	292.40	292.77	279.96	292.84	296.63	273.40	275.26	300.91	296.23	0.00
0.1Gy/48h	992.17	992.21	992.21	992.14	992.22	992.23	992.11	992.11	992.26	992.23	964.83
0.5Gy/48h	974.94	975.15	975.24	974.74	975.25	975.30	974.53	974.55	975.53	975.28	750.23
1Gy/48h	949.65	950.17	950.16	949.15	950.14	950.53	948.24	948.70	950.87	950.48	420.48
2Gy/48h	886.92	888.29	888.14	885.56	887.98	889.21	882.68	884.42	890.03	889.10	60.84
5Gy/48h	639.96	644.45	643.53	635.39	642.59	647.45	623.77	631.77	649.88	647.11	0.00
8Gy/48h	388.50	394.72	393.27	382.18	391.78	398.87	365.64	377.31	402.19	398.40	0.00
0.1Gy/120h	991.21	991.24	991.33	991.18	991.41	991.26	991.46	991.15	991.37	991.26	967.04
0.5Gy/120h	975.35	975.53	975.54	975.18	975.56	975.66	974.81	975.00	975.83	975.64	812.09
1Gy/120h	953.88	954.31	954.04	953.49	953.83	954.59	951.32	953.08	954.78	954.55	570.00
2Gy/120h	905.50	906.53	905.23	904.55	904.05	907.19	895.87	903.58	907.21	907.09	184.12
5Gy/120h	729.34	732.73	725.35	726.16	719.37	734.78	684.87	722.64	733.21	734.44	0.34
8Gy/120h	537.97	543.46	529.72	532.81	518.75	546.73	460.95	527.08	543.15	546.15	0.00
0.1Gy/240h	989.43	989.47	989.71	989.41	989.87	989.49	990.81	989.46	989.67	989.49	966.77
0.5Gy/240h	974.16	974.34	974.36	974.00	974.37	974.46	974.28	973.89	974.62	974.44	840.22
1Gy/240h	954.43	954.83	954.13	954.09	953.65	955.07	951.14	953.70	955.00	955.03	653.91
2Gy/240h	912.51	913.45	910.07	911.73	907.61	913.97	897.05	910.56	912.78	913.85	311.03
5Gy/240h	771.88	774.99	755.80	769.47	742.80	776.43	692.37	764.76	768.10	775.92	5.72
8Gy/240h	622.01	627.42	588.73	617.94	563.43	629.72	474.13	609.21	612.00	628.75	0.01

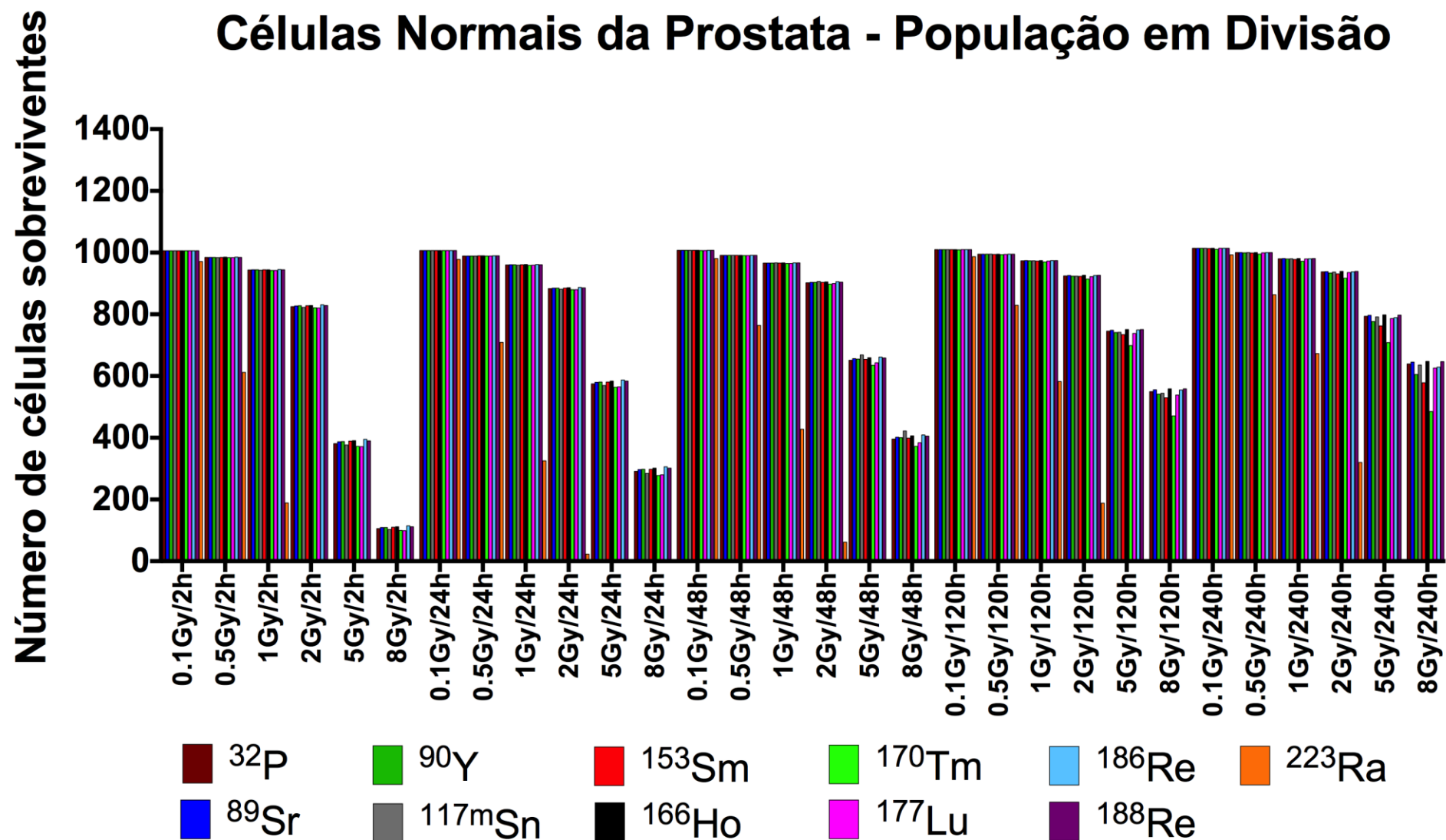


Figura A.9: Resultados número de células neoplásicas sobreviventes numa população quiescentes após irradiação com os diferentes radioisótopos.

A.10: Número de células neoplásicas sobreviventes numa população heterogénea ($G_0=0.5$)

Cenários de irradiação	³² P	⁸⁹ Sr	⁹⁰ Y	^{117m} Sn	¹⁵³ Sm	¹⁶⁶ Ho	¹⁷⁰ Tm	¹⁷⁷ Lu	¹⁸⁶ Re	¹⁸⁸ Re	²²³ Ra
0.1Gy/2h	1014.70	1014.30	1014.40	1014.70	1014.40	1014.40	1014.60	1014.60	1014.40	1014.40	980.23
0.5Gy/2h	993.70	994.00	994.05	993.44	994.10	994.21	993.20	993.15	994.44	994.19	618.52
1Gy/2h	952.65	953.49	953.62	951.92	953.77	954.08	951.23	951.10	954.72	954.00	191.06
2Gy/2h	833.12	835.48	835.86	831.10	836.31	837.15	829.15	828.76	838.96	836.93	3.62
5Gy/2h	385.38	390.97	391.91	380.74	393.07	395.00	376.14	375.16	399.43	394.46	0.00
8Gy/2h	106.65	110.27	110.91	103.75	111.73	112.95	100.84	100.19	115.94	112.59	0.00
0.1Gy/24h	1015.80	1015.80	1015.80	1015.80	1015.80	1015.90	1015.70	1015.70	1015.90	1015.90	987.59
0.5Gy/24h	998.86	999.10	999.13	998.62	999.16	999.27	998.41	998.41	999.45	999.25	717.09
1Gy/24h	969.95	970.58	970.65	969.33	970.70	971.02	968.73	968.80	971.47	970.97	329.02
2Gy/24h	892.75	894.48	894.28	891.00	894.35	895.65	888.90	889.59	896.51	895.54	23.90
5Gy/24h	581.16	586.58	586.93	575.60	587.03	590.27	569.81	571.35	593.99	589.92	0.00
8Gy/24h	294.51	300.85	301.23	288.05	301.31	305.21	281.30	283.22	309.62	304.80	0.00
0.1Gy/48h	1016.90	1017.00	1017.00	1016.90	1017.00	1017.00	1016.90	1016.90	1017.00	1017.00	991.70
0.5Gy/48h	1001.60	1001.80	1001.50	1001.40	1001.50	1002.00	1000.70	1001.20	1001.80	1002.00	772.51
1Gy/48h	976.10	976.64	976.63	975.58	976.61	977.00	974.65	975.12	977.35	976.96	433.29
2Gy/48h	912.48	913.89	913.74	911.09	913.57	914.84	907.70	909.91	915.68	914.73	62.68
5Gy/48h	659.02	663.65	662.70	654.31	661.73	666.73	642.35	650.58	669.24	666.38	0.00
8Gy/48h	400.45	406.86	405.17	393.94	403.64	411.14	376.71	388.91	414.36	410.65	0.00
0.1Gy/120h	1021.90	1021.90	1021.50	1021.80	1021.10	1021.90	1020.20	1021.80	1021.60	1021.90	999.77
0.5Gy/120h	1007.40	1007.60	1007.10	1007.20	1006.70	1007.70	1005.00	1007.10	1007.40	1007.70	841.11
1Gy/120h	986.17	986.61	985.87	985.77	985.19	986.90	981.68	985.34	986.63	986.86	590.58
2Gy/120h	937.03	938.10	935.87	936.04	934.65	938.78	925.33	934.61	938.36	938.67	190.87
5Gy/120h	755.45	758.95	750.95	752.15	744.42	761.08	708.05	748.51	759.10	760.72	0.35
8Gy/120h	557.48	563.18	548.68	552.14	537.07	566.56	477.00	546.20	562.59	565.96	0.00
0.1Gy/240h	1030.60	1030.70	1029.50	1030.60	1028.70	1030.70	1023.40	1030.20	1029.90	1030.70	1009.40
0.5Gy/240h	1016.60	1016.80	1015.40	1016.50	1014.50	1016.90	1008.20	1015.90	1016.20	1016.90	878.87
1Gy/240h	996.97	997.38	995.26	996.61	993.82	997.64	985.22	995.74	996.63	997.59	684.57
2Gy/240h	954.07	955.06	949.74	953.26	946.72	955.60	929.63	951.59	953.46	955.47	325.84
5Gy/240h	807.80	811.05	789.85	805.27	775.54	812.56	718.52	799.97	803.09	812.02	5.99
8Gy/240h	651.26	656.92	615.54	647.00	588.54	659.32	492.27	637.55	640.18	658.31	0.01

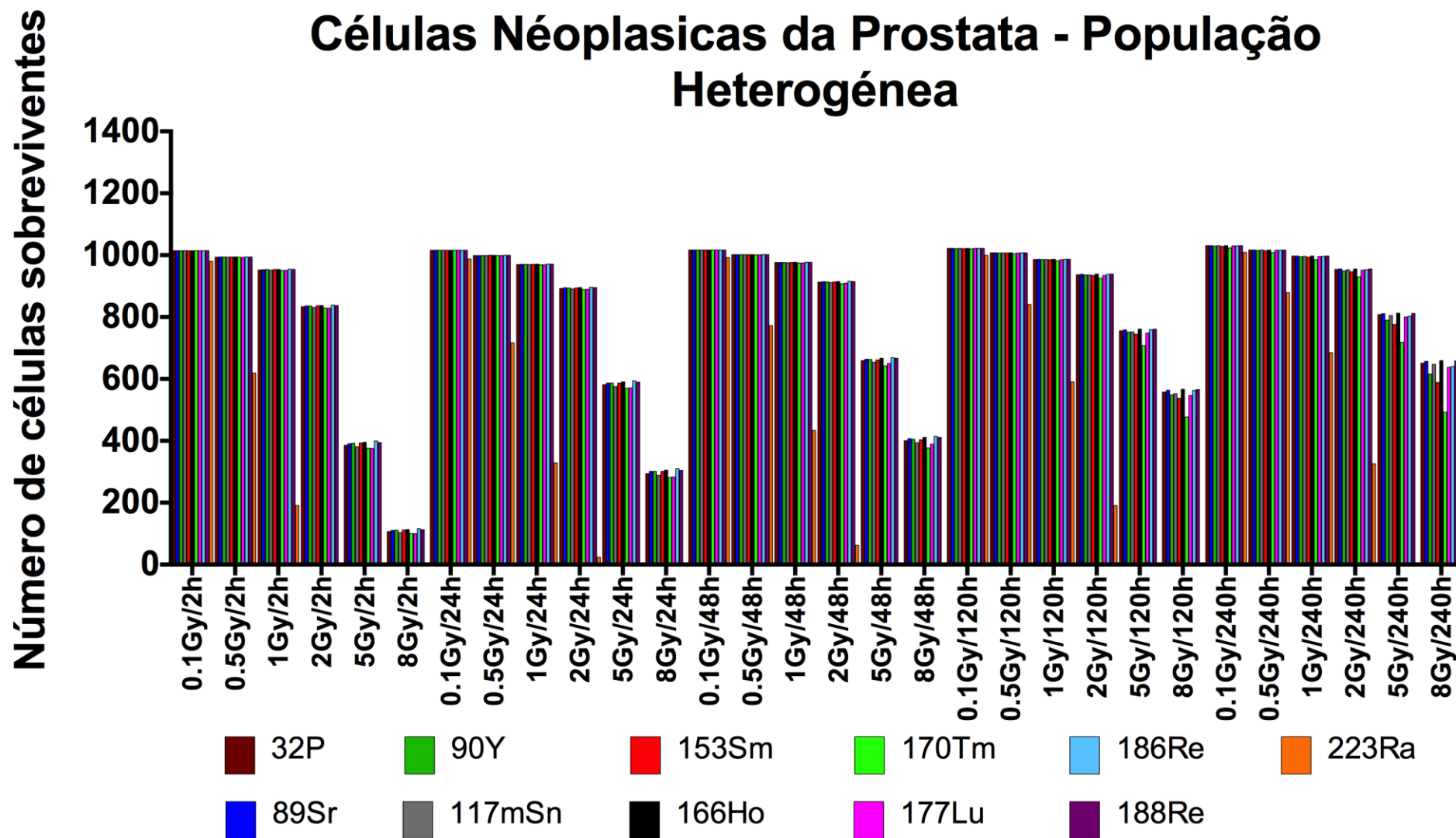


Figura A.10: Resultados número de células neoplásicas sobreviventes numa população heterogénea após irradiação com os diferentes radioisótopos.

A.11: Número de células neoplásicas sobreviventes numa população em divisão ($G_0=1$)

Cenários de irradiação	³² P	⁸⁹ Sr	⁹⁰ Y	^{117m} Sn	¹⁵³ Sm	¹⁶⁶ Ho	¹⁷⁰ Tm	¹⁷⁷ Lu	¹⁸⁶ Re	¹⁸⁸ Re	²²³ Ra
0.1Gy/2h	1037.50	1036.70	1036.70	1037.50	1036.70	1036.70	1037.40	1037.40	1036.70	1036.70	1004.60
0.5Gy/2h	1017.90	1018.20	1018.30	1017.70	1018.30	1018.50	1017.40	1017.40	1018.70	1018.40	635.09
1Gy/2h	976.80	977.66	977.80	976.05	977.95	978.27	975.35	975.21	978.92	978.19	196.37
2Gy/2h	854.64	857.06	857.45	852.57	857.91	858.77	850.57	850.17	860.64	858.55	3.72
5Gy/2h	395.89	401.63	402.60	391.12	403.80	405.77	386.40	385.39	410.33	405.22	0.00
8Gy/2h	109.61	113.34	113.99	106.63	114.83	116.09	103.64	102.97	119.16	115.71	0.00
0.1Gy/24h	1039.80	1039.80	1039.80	1039.80	1039.80	1039.90	1039.70	1039.70	1039.90	1039.90	1013.80
0.5Gy/24h	1024.40	1024.60	1024.70	1024.10	1024.70	1024.80	1023.90	1023.90	1025.00	1024.80	737.48
1Gy/24h	995.66	996.31	996.38	995.03	996.43	996.75	994.41	994.48	997.22	996.71	338.53
2Gy/24h	917.27	919.05	918.41	915.48	918.49	920.26	912.89	914.02	920.70	920.14	24.62
5Gy/24h	597.68	603.26	603.62	591.97	603.72	607.05	586.01	587.59	610.88	606.69	0.00
8Gy/24h	303.03	309.55	309.94	296.38	310.02	314.04	289.44	291.41	318.57	313.61	0.00
0.1Gy/48h	1042.30	1042.40	1042.40	1042.30	1042.40	1042.40	1042.30	1042.30	1042.40	1042.40	1019.30
0.5Gy/48h	1029.00	1029.30	1028.40	1028.80	1028.40	1029.40	1027.60	1028.60	1028.70	1029.40	795.52
1Gy/48h	1003.30	1003.80	1003.80	1002.80	1003.80	1004.20	1001.80	1002.30	1004.60	1004.20	446.61
2Gy/48h	938.78	940.23	940.07	937.34	939.90	941.20	933.42	936.13	942.07	941.09	64.63
5Gy/48h	678.65	683.42	682.43	673.80	681.44	686.59	661.49	669.96	689.17	686.23	0.00
8Gy/48h	412.76	419.37	417.44	406.05	415.86	423.78	388.11	400.87	426.90	423.28	0.00
0.1Gy/120h	1053.50	1053.50	1052.60	1053.50	1051.70	1053.60	1049.80	1053.40	1052.70	1053.60	1033.60
0.5Gy/120h	1040.50	1040.70	1039.80	1040.40	1038.80	1040.90	1036.10	1040.20	1040.10	1040.90	871.21
1Gy/120h	1019.60	1020.00	1018.80	1019.10	1017.60	1020.30	1013.00	1018.70	1019.60	1020.30	612.00
2Gy/120h	969.66	970.76	967.55	968.63	966.29	971.46	955.75	966.70	970.57	971.36	197.98
5Gy/120h	782.48	786.12	777.47	779.07	770.34	788.32	732.02	775.30	785.90	787.95	0.37
8Gy/120h	577.71	583.61	568.32	572.17	556.03	587.11	493.61	566.01	582.73	586.49	0.00
0.1Gy/240h	1073.50	1073.60	1070.80	1073.50	1069.00	1073.60	1057.10	1072.60	1071.80	1073.60	1053.90
0.5Gy/240h	1060.90	1061.10	1058.20	1060.80	1056.20	1061.30	1043.40	1059.60	1059.50	1061.20	919.33
1Gy/240h	1041.40	1041.80	1038.20	1041.00	1035.70	1042.10	1020.50	1039.60	1040.10	1042.10	716.76
2Gy/240h	997.53	998.56	991.14	996.68	987.53	999.13	963.39	994.47	995.95	998.99	341.48
5Gy/240h	845.38	848.78	825.44	842.74	809.73	850.36	745.66	836.79	839.67	849.81	6.29
8Gy/240h	681.88	687.81	643.58	677.42	614.77	690.32	511.10	667.22	669.65	689.27	0.01

Número de células sobreviventes

Células Néoplasicas da Prostata - População em Divisão

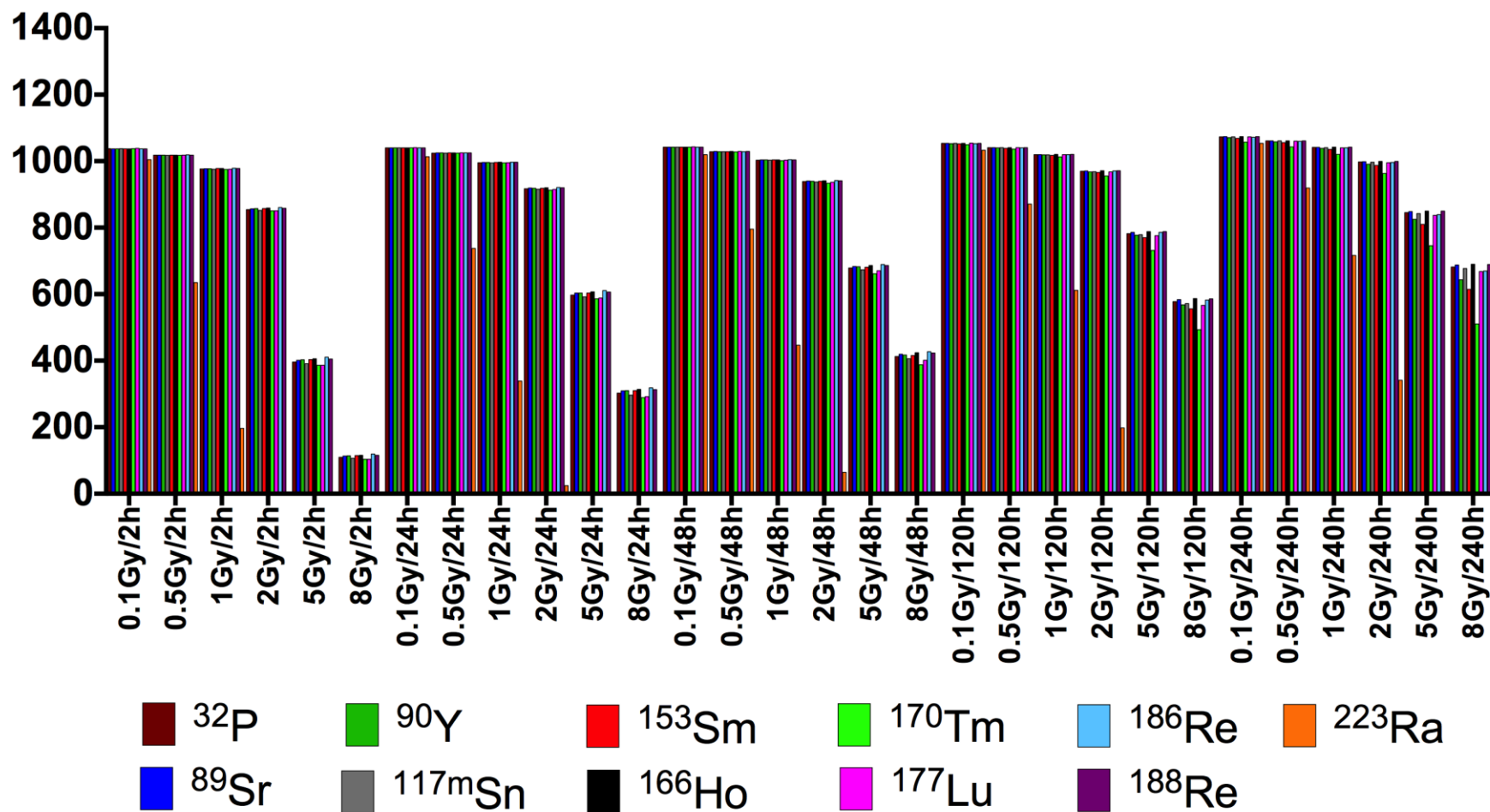


Figura A.11: Resultados número de células neoplásicas sobreviventes numa população em divisão após irradiação com os diferentes radioisótopos.

A.12: Número de células metastáticas sobreviventes numa população quiescente ($G_0=0$)

Cenários de irradiação	³² P	⁸⁹ Sr	⁹⁰ Y	^{117m} Sn	¹⁵³ Sm	¹⁶⁶ Ho	¹⁷⁰ Tm	¹⁷⁷ Lu	¹⁸⁶ Re	¹⁸⁸ Re	²²³ Ra
0.1Gy/2h	992.40	992.52	992.52	992.37	992.53	992.55	992.34	992.33	992.57	992.54	956.45
0.5Gy/2h	970.04	970.33	970.38	969.79	970.43	970.54	969.55	969.50	970.76	970.51	602.48
1Gy/2h	929.10	929.91	930.04	928.38	930.19	930.49	927.71	927.58	931.11	930.41	186.01
2Gy/2h	812.14	814.44	814.81	810.17	815.25	816.07	808.27	807.89	817.84	815.86	3.53
5Gy/2h	375.15	380.58	381.50	370.63	382.64	384.51	366.16	365.20	388.83	383.99	0.00
8Gy/2h	103.77	107.30	107.92	100.95	108.71	109.90	98.12	97.48	112.81	109.55	0.00
0.1Gy/24h	992.36	992.39	992.40	992.32	992.40	992.42	992.30	992.29	992.44	992.41	962.10
0.5Gy/24h	973.98	974.21	974.24	973.75	974.27	974.38	973.54	973.54	974.55	974.36	697.35
1Gy/24h	944.91	945.52	945.59	944.30	945.63	945.94	943.72	943.78	946.38	945.90	319.90
2Gy/24h	868.88	870.56	870.77	867.18	870.85	871.71	865.54	865.80	872.95	871.59	23.24
5Gy/24h	565.09	570.36	570.70	559.69	570.80	573.95	554.05	555.55	577.57	573.61	0.00
8Gy/24h	286.23	292.40	292.77	279.96	292.84	296.63	273.40	275.26	300.91	296.23	0.00
0.1Gy/48h	992.17	992.21	992.21	992.14	992.22	992.23	992.11	992.11	992.26	992.23	964.83
0.5Gy/48h	974.94	975.15	975.24	974.74	975.25	975.30	974.53	974.55	975.53	975.28	750.23
1Gy/48h	949.65	950.17	950.16	949.15	950.14	950.53	948.24	948.70	950.87	950.48	420.48
2Gy/48h	886.92	888.29	888.14	885.56	887.98	889.21	882.68	884.42	890.03	889.10	60.84
5Gy/48h	639.96	644.45	643.53	635.39	642.59	647.45	623.77	631.77	649.88	647.11	0.00
8Gy/48h	388.50	394.72	393.27	382.18	391.78	398.87	365.64	377.31	402.19	398.40	0.00
0.1Gy/120h	991.21	991.24	991.33	991.18	991.41	991.26	991.46	991.15	991.37	991.26	967.04
0.5Gy/120h	975.35	975.53	975.54	975.18	975.56	975.66	974.81	975.00	975.83	975.64	812.09
1Gy/120h	953.88	954.31	954.04	953.49	953.83	954.59	951.32	953.08	954.78	954.55	570.00
2Gy/120h	905.50	906.53	905.23	904.55	904.05	907.19	895.87	903.58	907.21	907.09	184.12
5Gy/120h	729.34	732.73	725.35	726.16	719.37	734.78	684.87	722.64	733.21	734.44	0.34
8Gy/120h	537.97	543.46	529.72	532.81	518.75	546.73	460.95	527.08	543.15	546.15	0.00
0.1Gy/240h	989.43	989.47	989.71	989.41	989.87	989.49	990.81	989.46	989.67	989.49	966.77
0.5Gy/240h	974.16	974.34	974.36	974.00	974.37	974.46	974.28	973.89	974.62	974.44	840.22
1Gy/240h	954.43	954.83	954.13	954.09	953.65	955.07	951.14	953.70	955.00	955.03	653.91
2Gy/240h	912.51	913.45	910.07	911.73	907.61	913.97	897.05	910.56	912.78	913.85	311.03
5Gy/240h	771.88	774.99	755.80	769.47	742.80	776.43	692.37	764.76	768.10	775.92	5.72
8Gy/240h	622.01	627.42	588.73	617.94	563.43	629.72	474.13	609.21	612.00	628.75	0.01

Número de células sobreviventes

Células Metastáticas da Prostata - População Quiescente

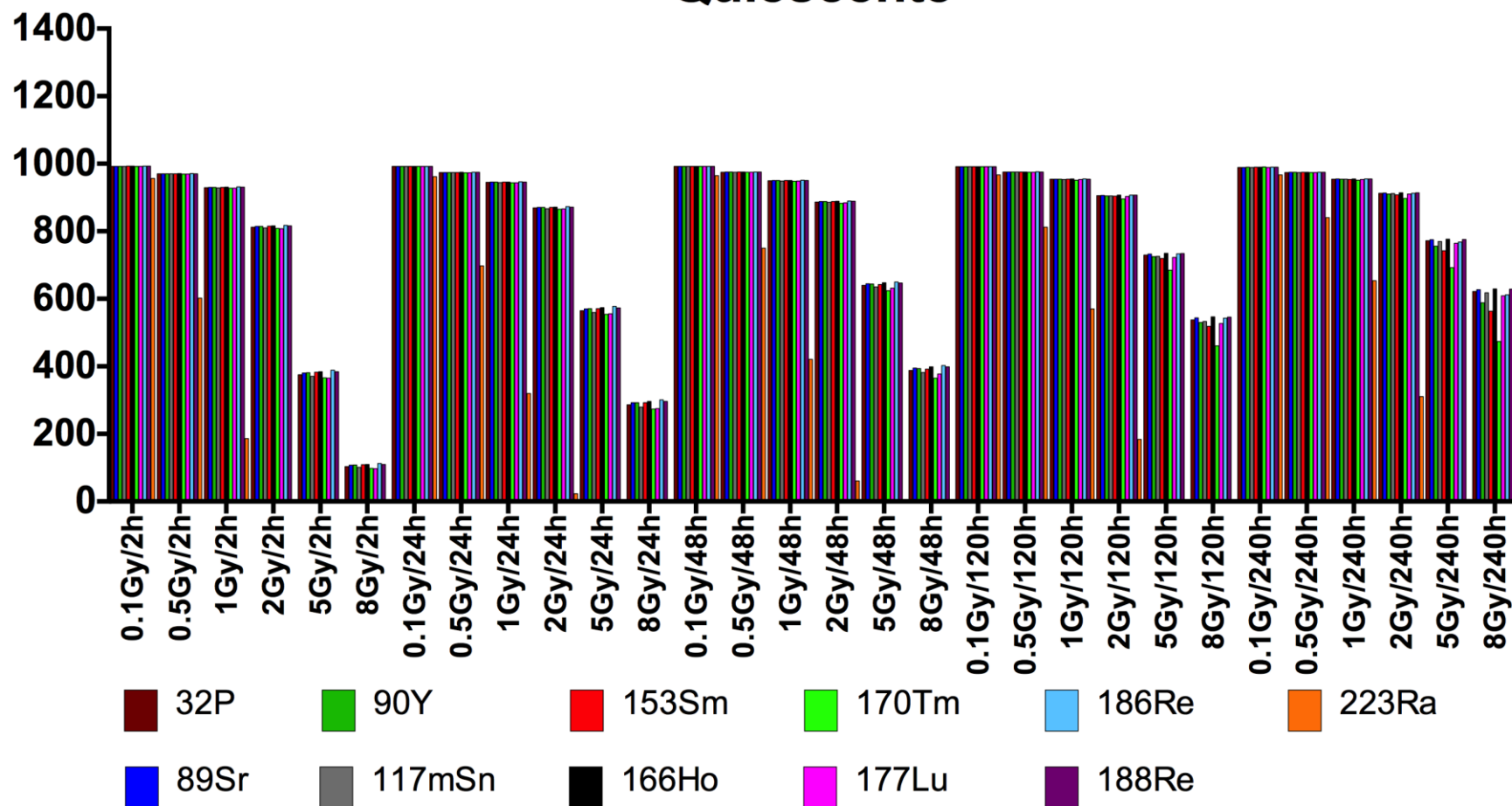


Figura A.12: Resultados número de células metastáticas sobreviventes numa população quiescente após irradiação com os diferentes radioisótopos.

A.13: Número de células metastáticas sobreviventes numa população heterogénea ($G_0=0.5$)

Cenários de irradiação	³² P	⁸⁹ Sr	⁹⁰ Y	^{117m} Sn	¹⁵³ Sm	¹⁶⁶ Ho	¹⁷⁰ Tm	¹⁷⁷ Lu	¹⁸⁶ Re	¹⁸⁸ Re	²²³ Ra
0.1Gy/2h	1057.30	1056.00	1056.10	1057.30	1056.10	1056.10	1057.30	1057.30	1056.10	1056.10	1025.90
0.5Gy/2h	1039.10	1039.40	1039.40	1038.80	1039.50	1039.60	1038.50	1038.50	1039.80	1039.60	649.56
1Gy/2h	997.86	998.74	998.87	997.10	999.03	999.36	996.37	996.23	1000.00	999.28	201.00
2Gy/2h	873.42	875.89	876.28	871.29	876.75	877.64	869.25	868.84	879.54	877.41	3.81
5Gy/2h	405.07	410.94	411.94	400.19	413.16	415.18	395.36	394.33	419.85	414.62	0.00
8Gy/2h	112.20	116.01	116.68	109.15	117.54	118.82	106.09	105.40	121.98	118.44	0.00
0.1Gy/24h	1060.70	1060.70	1060.70	1060.60	1060.70	1060.70	1060.60	1060.60	1060.80	1060.70	1036.60
0.5Gy/24h	1046.60	1046.90	1046.90	1046.40	1046.90	1047.10	1046.20	1046.20	1047.20	1047.00	755.31
1Gy/24h	1018.10	1018.80	1018.80	1017.50	1018.90	1019.20	1016.80	1016.90	1019.70	1019.20	346.85
2Gy/24h	938.69	940.51	939.48	936.86	939.57	941.75	933.84	935.37	941.83	941.62	25.24
5Gy/24h	612.13	617.84	618.21	606.27	618.32	621.73	600.17	601.79	625.64	621.36	0.00
8Gy/24h	310.47	317.16	317.56	303.67	317.64	321.76	296.55	298.57	326.40	321.32	0.00
0.1Gy/48h	1064.50	1064.50	1064.50	1064.40	1064.50	1064.50	1064.40	1064.40	1064.60	1064.50	1043.50
0.5Gy/48h	1053.00	1053.20	1051.90	1052.80	1051.90	1053.40	1051.10	1052.60	1052.20	1053.40	815.66
1Gy/48h	1027.10	1027.60	1027.60	1026.50	1027.60	1028.00	1025.50	1026.00	1028.40	1028.00	458.29
2Gy/48h	961.78	963.26	963.10	960.31	962.93	964.26	955.91	959.06	965.14	964.14	66.35
5Gy/48h	695.83	700.72	699.71	690.86	698.69	703.97	678.23	686.92	706.62	703.60	0.00
8Gy/48h	423.55	430.33	428.17	416.66	426.56	434.86	398.09	411.35	437.88	434.35	0.00
0.1Gy/120h	1081.20	1081.20	1079.90	1081.20	1078.50	1081.30	1075.70	1081.10	1079.90	1081.30	1063.30
0.5Gy/120h	1069.60	1069.80	1068.40	1069.40	1067.00	1070.00	1063.30	1069.20	1068.70	1069.90	897.70
1Gy/120h	1048.90	1049.30	1047.60	1048.40	1046.00	1049.70	1040.50	1048.00	1048.50	1049.60	630.86
2Gy/120h	998.34	999.48	995.38	997.29	994.08	1000.20	982.46	994.90	998.89	1000.10	204.24
5Gy/120h	806.28	810.02	800.79	802.76	793.13	812.29	753.07	798.87	809.47	811.91	0.38
8Gy/120h	595.51	601.59	585.60	589.80	572.71	605.21	508.22	583.46	600.45	604.56	0.00
0.1Gy/240h	1111.50	1111.50	1107.40	1111.50	1104.60	1111.60	1086.70	1110.00	1108.80	1111.60	1093.30
0.5Gy/240h	1100.20	1100.40	1096.00	1100.00	1093.10	1100.50	1074.30	1098.40	1097.80	1100.50	955.26
1Gy/240h	1080.80	1081.30	1076.10	1080.40	1072.70	1081.50	1051.60	1078.50	1078.60	1081.50	745.37
2Gy/240h	1036.10	1037.20	1027.80	1035.20	1023.70	1037.80	993.11	1032.50	1033.60	1037.60	355.40
5Gy/240h	878.78	882.31	857.02	876.03	840.03	883.96	769.58	869.50	872.14	883.37	6.55
8Gy/240h	709.10	715.26	668.47	704.46	638.03	717.88	527.71	693.57	695.82	716.78	0.01

Células Metastáticas da Prostata - População Heterogénea

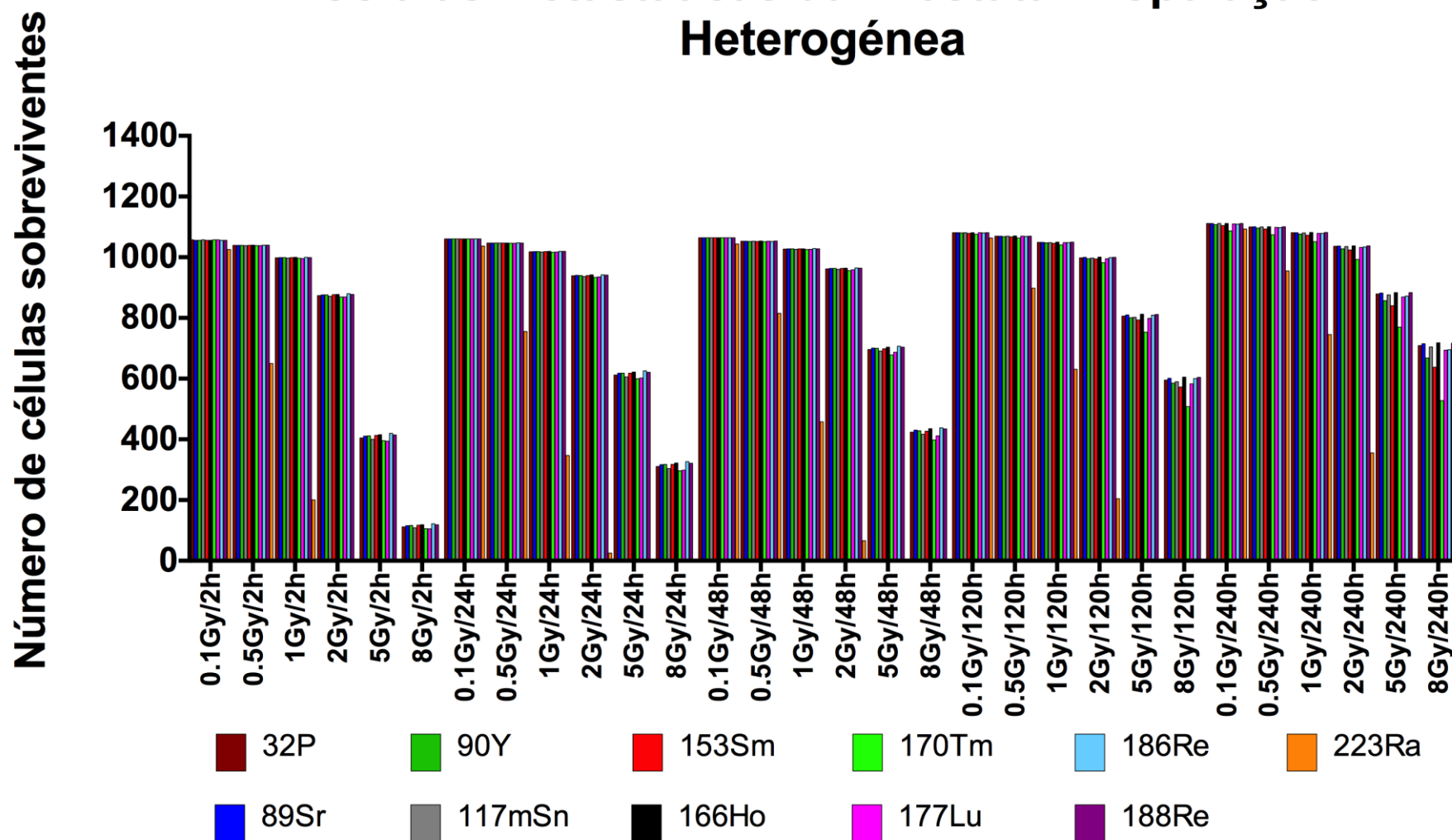


Figura A.13: Resultados número de células metastáticas sobreviventes numa população heterogénea após irradiação com os diferentes radioisótopos.

A.14: Número de células metastáticas sobreviventes numa população em divisão ($G_0=1$)

Cenários de irradiação	³² P	⁸⁹ Sr	⁹⁰ Y	^{117m} Sn	¹⁵³ Sm	¹⁶⁶ Ho	¹⁷⁰ Tm	¹⁷⁷ Lu	¹⁸⁶ Re	¹⁸⁸ Re	²²³ Ra
0.1Gy/2h	1126.50	1123.60	1123.60	1126.50	1123.70	1123.70	1126.40	1126.40	1123.70	1123.70	1100.30
0.5Gy/2h	1113.00	1113.30	1113.40	1112.70	1113.40	1113.50	1112.40	1112.40	1113.80	1113.50	700.44
1Gy/2h	1071.70	1072.70	1072.80	1070.90	1073.00	1073.30	1070.10	1070.00	1074.00	1073.20	217.33
2Gy/2h	939.31	941.97	942.40	937.03	942.90	943.85	934.83	934.39	945.90	943.61	4.13
5Gy/2h	437.39	443.73	444.80	432.12	446.12	448.30	426.90	425.78	453.34	447.70	0.00
8Gy/2h	121.31	125.43	126.16	118.02	127.08	128.48	114.70	113.96	131.88	128.06	0.00
0.1Gy/24h	1133.70	1133.80	1133.80	1133.70	1133.80	1133.80	1133.60	1133.60	1133.80	1133.80	1116.90
0.5Gy/24h	1124.70	1125.00	1125.00	1124.40	1125.00	1125.10	1124.20	1124.20	1125.30	1125.10	818.18
1Gy/24h	1097.00	1097.70	1097.80	1096.30	1097.80	1098.20	1095.60	1095.70	1098.70	1098.10	376.23
2Gy/24h	1014.10	1016.10	1013.60	1012.10	1013.70	1017.40	1007.50	1010.50	1016.10	1017.30	27.45
5Gy/24h	663.09	669.27	669.67	656.74	669.79	673.48	650.13	651.89	677.72	673.08	0.00
8Gy/24h	336.77	344.02	344.45	329.38	344.54	349.01	321.67	323.86	354.04	348.54	0.00
0.1Gy/48h	1142.00	1142.10	1142.10	1142.00	1142.10	1142.10	1142.00	1142.00	1142.10	1142.10	1128.50
0.5Gy/48h	1137.30	1137.50	1134.60	1137.10	1134.60	1137.70	1133.80	1136.80	1134.90	1137.70	886.87
1Gy/48h	1110.80	1111.40	1111.40	1110.20	1111.30	1111.80	1109.10	1109.60	1112.20	1111.70	499.63
2Gy/48h	1043.00	1044.60	1044.40	1041.40	1044.20	1045.60	1035.20	1040.00	1046.60	1045.50	72.43
5Gy/48h	756.58	761.89	760.80	751.17	759.69	765.43	737.45	746.90	768.31	765.03	0.00
8Gy/48h	461.76	469.15	466.18	454.25	464.42	474.09	433.43	448.46	476.75	473.53	0.00
0.1Gy/120h	1179.40	1179.40	1176.40	1179.30	1173.30	1179.40	1167.10	1179.30	1176.40	1179.40	1169.20
0.5Gy/120h	1173.00	1173.20	1170.10	1172.80	1167.00	1173.40	1159.90	1172.60	1170.40	1173.30	992.39
1Gy/120h	1153.30	1153.80	1150.40	1152.90	1147.10	1154.20	1138.00	1152.40	1151.30	1154.10	698.34
2Gy/120h	1100.70	1102.00	1094.50	1099.50	1093.10	1102.80	1077.40	1095.40	1099.80	1102.60	226.70
5Gy/120h	891.33	895.46	884.07	887.44	874.45	897.97	828.07	883.14	893.66	897.55	0.42
8Gy/120h	659.21	665.94	647.37	652.89	632.27	669.94	560.32	645.86	663.78	669.23	0.00
0.1Gy/240h	1248.60	1248.70	1239.00	1248.60	1232.60	1248.70	1191.80	1245.30	1242.30	1248.70	1236.40
0.5Gy/240h	1242.60	1242.80	1232.90	1242.40	1226.30	1242.90	1184.60	1238.90	1236.50	1242.90	1086.10
1Gy/240h	1223.90	1224.40	1213.80	1223.50	1206.70	1224.70	1162.60	1219.70	1218.10	1224.70	849.73
2Gy/240h	1176.40	1177.70	1160.80	1175.40	1154.60	1178.30	1099.50	1170.80	1170.50	1178.20	406.24
5Gy/240h	1000.50	1004.50	971.80	997.35	949.99	1006.40	855.42	988.59	990.26	1005.70	7.51
8Gy/240h	808.38	815.40	759.01	803.09	722.52	818.39	587.35	789.62	791.13	817.13	0.01

Número de células sobreviventes

Células Metastáticas da Prostata - População em Divisão

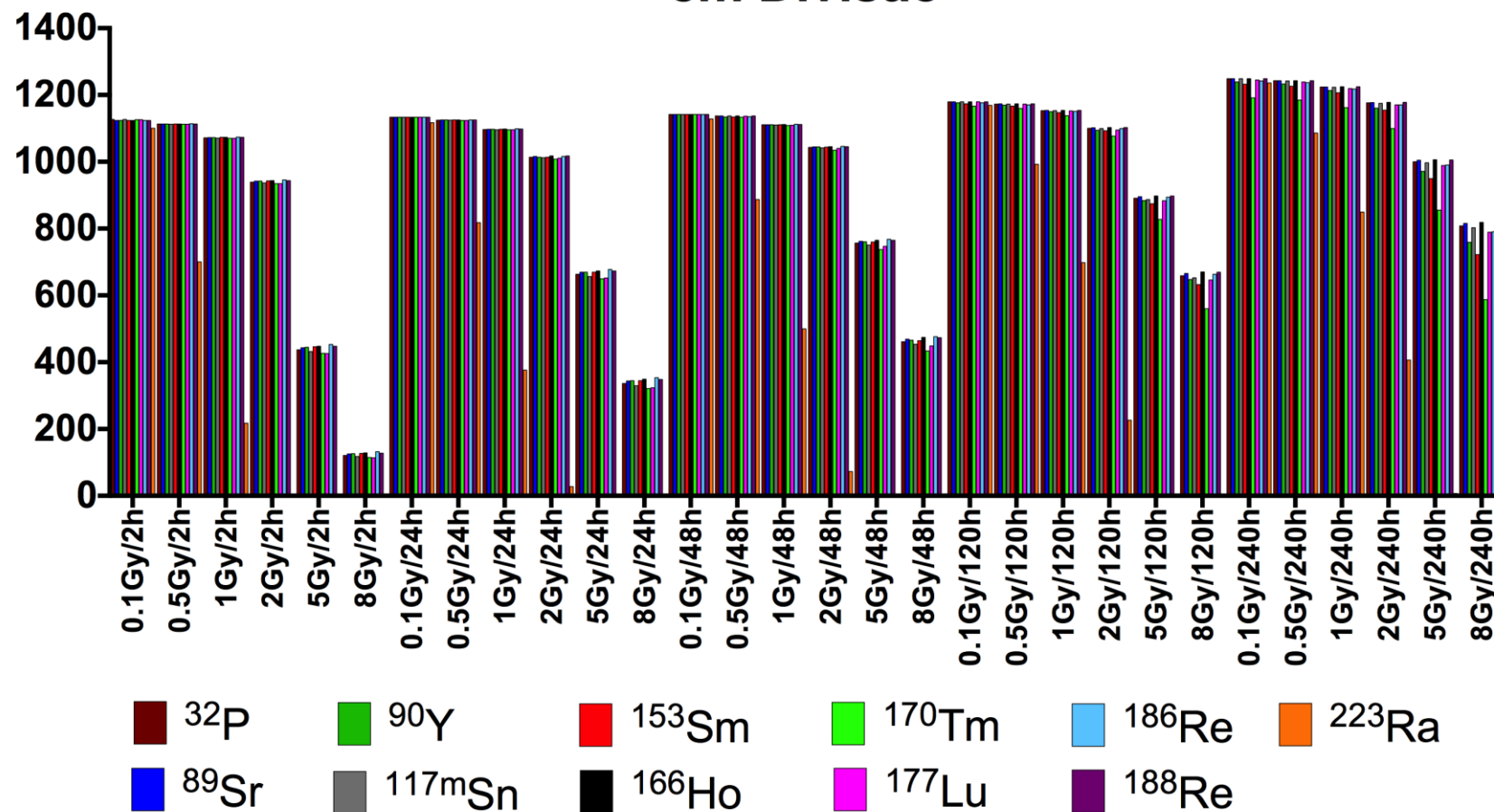


Figura A.15: Resultados número de células metastáticas sobreviventes numa população em divisão após irradiação com os diferentes radioisótopos.